

UNIVERSITE SAAD DAHLED DE BLIDA

Institut des Sciences Vétérinaires

THÈSE DE DOCTORAT

Spécialité : Sciences Vétérinaires

ETUDE DES KYSTES OVARIENS CHEZ LA VACHE EN ALGÉRIE

Par **Mme. MIMOUNE Nora**

Devant le jury composé de

LAFRI M.	Professeur, U.S.D de Blida	Président
KHELEF D.	Professeur, E.N.S.V, Alger	Examineur
AIT-LOUDHIA K.	MCA, E.N.S.V, Alger	Examineur
BOUMAHDI Z.	MCA, U.S.D de Blida	Examineur
KHIATI B.	MCA, Université de Tiaret	Examineur
KAIDI R.	Professeur, U.S.D de Blida	Promoteur
BELARBI A.	Professeur, C.H.U de Douira	Invité d'honneur

Blida, Juin 2016

RÉSUMÉ

L'objectif principal du travail était d'apporter une contribution originale à la connaissance des kystes ovariens (KO) chez la vache en Algérie. Pour cela, différentes études ont été réalisées : macroscopique, histologique, hormonale, biochimique, immunohistochimique et clinique.

L'étude macroscopique a concerné le recensement des différentes pathologies génitales rencontrées à l'abattoir d'El-Harrach par examen minutieux de 2025 tractus génitaux. Suite à cette étude, nous avons constaté que les KO (14.25%) et l'infection utérine (12.24%) constituent les 02 entités pathologiques les plus rencontrées en post-mortem. Une fréquence élevée des femelles gestantes réformées a été révélée dans l'étude (16.49%). L'examen microscopique nous a permis de préciser les types de 240 KO récoltés en ex-vivo et par la suite l'obtention de leurs réelles fréquences (kyste folliculaire, KF : 64.73% ; kyste lutéal, KL : 34.85%).

Certains paramètres du profil hormonal et métabolique ont été mesurés à partir des prélèvements du liquide kystique aspirés des ovaires d'animaux abattus. Des niveaux faibles de glucose et du cholestérol et un taux d'urée élevé ont été enregistrés dans le liquide kystique. Par immunohistochimie, nous avons noté des changements d'expression de certains éléments notamment le facteur antiapoptotique (Bcl2), la molécule angiogénique (VEGF), l'inhibine α et la protéine cytosquelettique (vimentine). Ces modifications expliquent en partie la formation et/ou la persistance des KO.

L'étude clinique a été réalisée dans la région de la Mitidja. Elle s'est intéressée aux vaches qui avaient plus de 60j PP. Les résultats obtenus montrent une fréquence globale des KO de 11.9%. L'échographie combinée à un dosage de la progesterone constitue le meilleur moyen diagnostique des KO sur le terrain. La PGF2 α reste la molécule de choix pour le traitement du KL. Quant à l'association Progesterone-PGF2 α , elle a confirmé ses effets thérapeutiques pour le traitement des 02 types des KO. Ces derniers étaient associés avec des taux faibles de glucose, d'insuline et d'urée ainsi qu'avec des niveaux élevés de cortisol dans le sérum.

Mots clés : Vache, utérus, oviducte, ovaire, kyste, abattoir, histologie, immunohistochimie, dosage, hormone, biochimie, Mitidja, échographie, traitement.

ABSTRACT

The aim of this study was mainly to contribute to the knowledge of bovine ovarian cyst (OC) in Algeria. Therefore, various studies were carried out: macroscopic, histological, hormonal, biochemical, immunohistochemical and clinical.

The macroscopic study concerned the identification of the genital organ disorders of 2025 cows reformed at El-Harrach abattoir. Following this study, we noted that the most frequent defects encountered were ovarian cyst (14.25%) and uterine infection (12.24%). The results obtained showed a high incidence of slaughtered pregnant cows (16.49%). Microscopic examination allowed us to specify the types of 240 OC collected in *ex vivo* and subsequently obtaining their real frequencies (follicular cyst, FC: 64.73 %; luteal cyst, LC: 34.85 %).

Some parameters of hormonal and metabolic profile were measured from the cystic fluid samples aspirated from ovaries of slaughtered animals. Low levels of glucose and cholesterol and high urea rates were recorded in the cystic fluid. By immunohistochemistry, we observed changes in expression of certain elements such as the anti-apoptotic factor (Bcl2), the angiogenic molecule (VEGF), inhibin α and the cytoskeletal protein (vimentin). These changes explain partly the formation and persistence of OC.

The clinical study was performed in the region of Mitidja. It interested cystic cows that had more than 60 days PP. The results showed an overall incidence of 11.9 % of OC. The ultrasound combined to a progesterone analysis was the best way to diagnose OC. The PGF2a remains the molecule of choice for the treatment of LC. As for the Progesterone - PGF2a association, it confirmed its therapeutic effects for treatment of 02 types of OC. OC were associated with low blood levels of glucose, insulin and urea as well as high levels of cortisol.

Keywords: Cow, uterus, oviduct, ovarian cyst, slaughterhouse, histology, immunohistochemistry, hormone, biochemistry, Mitidja, ultrasound, treatment.

ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقديم إضافة أصلية إلى المعلومات عن تكيس المبايض (KO) عند الأبقار في الجزائر. لهذا، أجريت دراسات عديدة عيانية، نسيجية، هرمونية، بيوكيميائية، مناعية وكذا سريرية.

شملت الدراسة العيانية إحصاء الأمراض التناسلية المختلفة بمسلخ الحراش وذلك بالمعاينة الدقيقة لـ: 2025 جهازا تناسليا. إثر هذه الدراسة، تم إحصاء 14.25 % كيس، و 12.24 % إصابة الرحم، هاتان الاصابتان تمثلان الأسقام الأكثر تواجدا والتي واجهناها في مرحلة ما بعد الذبح. وقد كشفت الدراسة أن نسبة الأبقار التي تم ذبحها جد عالية وهي 16.49 %. الفحص المجهرى سمح لنا بتمييز أنواع 240 كيس مسترجع بعد الذبح والحصول بعد ذلك على نسبها الفعليّة (الكيس الجريبي، KF 64.73 %، الكيس الأصفرى [تكيس الجسم الأصفر] KL 34.85 %).

تم قياس بعض معالم النشاط الهرموني والتمثيل الغذائي (الأيضى) من خلال عينات السائل المستخرج من كيس المبيض للحيوانات المذبوحة. مستويات الجلوكوز والكوليسترول كانت منخفضة بعكس معدلات اليوريا التي كانت عالية في السائل الكيسي. الدراسة المناعية النسيجوكيميائية، تم بواسطتها ملاحظة تغير رد فعل بعض العناصر بما في ذلك العامل المضاد لموت الخلايا المبرمج antiapoptotic (BCL2)، عامل التكون الوعائى الدموي (VEGF)، هرمون الإنهيبين α (inhibine α) وبروتين هيكل الخلية الفيمنتين (vimentine). هذه التغييرات تفسر جزئيا تشكل واستمرار الأكياس المبيضية.

وقد أجريت الدراسة السريرية في منطقة المتيجة الجزائرية. حيث اهتمت بالأبقار التي لها أكثر من 60 يوما بعد الولادة. وقد تم إعداد بروتوكولات متنوعة بمساعدة من ممارسي الطب البيطري. وكان الهدف هو مقارنة طرق تشخيص الأكياس المبيضية، وتقييم فعالية العلاجات المقدمة، وتحديد معالم عملية الأيض للحيوانات المصابة. أظهرت النتائج المتحصل عليها نسبة إجمالية لتكيس المبايض بـ: 11.9 %. الجمع بين الفحص بالموجات فوق الصوتية مع قياس جرعة هرمون البروجسترون يعد أفضل وسيلة للتشخيص الميداني لهذا الداء. في حين يبقى هرمون $PGF2\alpha$ من أفضل خيارات علاج الكيس الأصفرى. أما عند الدمج بين علاجي Progesterone- $PGF2\alpha$ ، فقد أكدت الآثار العلاجية أن لهما القدرة على علاج النوعين من التكيسات المبيضية. مع تسجيل مستويات منخفضة من الجلوكوز والأنسولين واليوريا وكذلك مستويات عالية من الكورتيزول.

الكلمات المفتاحية: البقرة، الرحم، قناة المبيض، كيس، مبيض، مسلخ، الأنسجة، النسيجوكيميائية المناعية، هرمون، الكيمياء الحيوية، متيجة، العلاج، الموجات فوق الصوتية.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance au Pr **KAIDI Rachid** qui m'a aidé tout au long de la réalisation de ce travail. Je lui suis très reconnaissante pour tout le temps qu'il m'a consacré pendant la réalisation des différentes étapes de notre thèse. Très sincères remerciements et Merci pour tous vos conseils.

Je remercie le Pr **LAFRI Mohamed** pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. Remerciements respectueux.

Mes remerciements s'adressent également aux Pr **KHELEF Djamel**, Dr **AIT- OUDHIA Khatima**, Dr **BOUMAHDY Zoubida** et Dr **KHIATI Baghdad** d'avoir accepté d'être les examinateurs de ce travail. Remerciements respectueux.

Mes sincères remerciements au Pr **BELARBI Ayed**, pour son soutien, sa confiance et son implication dans ce sujet. Hommage respectueux.

Mes plus chaleureux remerciements s'adressent à Mr **KEDDOUR Rachid**, l'ingénieur du laboratoire d'anatomie-pathologique de l'ENSV qui par ses conseils et son soutien a fortement enrichi ma formation. J'ai beaucoup appris à son contact et je voudrais lui témoigner toute ma reconnaissance.

Je voudrais vivement remercier Mme **DERDOUR Salima Yamina**, Responsable du Laboratoire de l'anatomie-pathologique de l'ENSV qui m'a accordé tous les moyens pour la bonne réussite de l'expérimentation.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel de l'abattoir d'El-Harrach, l'ensemble du personnel de la bibliothèque de l'ENSV surtout Mr **SEHAIM Yacine**, ainsi que Mme et Mr **KHELILI** ingénieurs au laboratoire du Centre de Recherche Nucléaire à Draria.

Je tiens également à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, je pense particulièrement à **Mr Guedioura Abd-Elmoumène**, Mme **ZENIA Safia**, et plus particulièrement au **Dr AZZOUZ M.Y**, qui a fourni tous ses efforts pour me soutenir.

A tous les vétérinaires qui m'ont aidé à la pratique. Un Merci particulier au Dr **Hafidh**, Dr **Dalil**, Dr **Achir** et Dr **Nadjar** pour leur soutien et la confiance qu'ils m'ont tout de suite accordée.

Dédicaces

Aux êtres les plus chers, les plus proches, ma mère et mon père, par leur soutien, amour, patience et conseils durant ces longues années d'étude, qu'ils trouvent ici un modeste témoignage de tout l'amour que j'ai pour eux.

À mon mari pour avoir toujours cru en moi, m'avoir permis de réaliser ce travail et m'avoir aidé sans limites. Je ne vous le dirai jamais assez : Merci pour tout.

À mes très chers frères et très chères sœurs qui ont partagé avec moi les moments difficiles.

À toute la famille Mimoune et Azzouz sans exception.

À mon 2^{ème} père, mon très cher promoteur Prof KAIDI Rachid pour ses conseils, son aide et sa compréhension. Grand respect pour vous.

À Fella la voisine qui m'aime avec tout son cœur et qui m'aide dans chaque instant dur. Merci à toi et à ta petite famille

À tout(e)s mes collègues(e)s surtout les enseignants de la Reproduction à l'ENSV.

*À toutes les promotions de magister ' **Reproduction et nutrition des bovins** '.*

À ceux qui pensent ne se reste qu'un instant à développer notre pays.

Table des matières

RÉSUMÉ

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

Introduction générale 1

CHAPITRE 1. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES SUR LES KYSTES OVARIENS CHEZ LA VACHE3

1.1. Définition.....3

1.2. Synonymie.....4

1.3. Classification.....4

1.4. Incidence et conséquence5

1.5. Devenir du Kyste ovarien.....7

1.6. Symptômes et diagnostic.....8

1.7. Pathogénie.....12

1.7.1. Activité cyclique de l’ovaire.....13

1.7.1.1. Folliculogénèse.....13

1.7.1.2. Mécanismes des vagues folliculaires.....16

1.7.1.3. Régulation endocrinienne de l’activité ovarienne.....19

1.7.2. Etiopathogénie.....22

1.7.2.1. Dysfonctionnement hypothalamo-hypophysaire.....22

1.7.2.2. Dysfonctionnement ovarien/folliculaire.....24

1.7.2.3. Facteurs liés à l’animal.....27

1.7.2.4. Facteurs liés à l’environnement.....32

1.7.2.5. Caractéristiques du liquide kystique.....33

1.8. Traitement36

1.8.1. Traitement non hormonal : Rupture manuelle et ponction du KO36

1.8.2. Traitement hormonal37

1.8.3. Traitement préventif41

CHAPITRE 2. ETUDE MACROSCOPIQUE ET MICROSCOPIQUE DES UTERI RECOLTES EN POST-MORTEM

2.1. Matériels et méthodes44

2.1.1. Animaux.....44

2.1.2.	Procédures de l'examen.....	45
A.	Examen macroscopique.....	45
B.	Examen microscopique	45
2.1.3.	Analyses statistiques	47
2.2.	Résultats	47
2.2.1.	Etude macroscopique et microscopique des utéri.....	47
2.2.1.1.	Anomalies relevées sur l'utérus.....	49
2.2.1.2.	Lésions des oviductes	52
2.2.1.3.	Lésions ovariennes	54
2.2.2.	Etude macroscopique et microscopique des kystes ovariens	58
2.3.	Discussion	68
Conclusion	74
CHAPITRE 3. PROFIL IMMUNOHISTOCHIMIQUE, METABOLIQUE ET HORMONAL		
DES KYSTES OVARIENS.....		81
3.1.	Matériels et méthodes.....	81
3.1.1.	Collecte des ovaires.....	81
3.1.2.	Aspiration des liquides folliculaires.....	81
3.1.3.	Analyses biochimiques.....	81
3.1.4.	Analyses hormonales.....	82
3.1.5.	Immunohistochimie.....	83
3.1.6.	Analyses statistiques.....	87
3.2.	Résultats.....	87
3.2.1.	Profil métabolique des liquides folliculaires et kystiques.....	87
3.2.1.	Profil hormonal des liquides folliculaires et kystiques.....	89
3.2.3.	Immunohistichimie.....	90
3.3.	Discussion.....	96
Conclusion	105
CHAPITRE 4. LE KYSTE OVARIEN DANS LA REGION DE LA MITIDJA.....		106
4.1	Matériels et méthodes.....	107
4.1.1	Période et particularités géographiques de la zone d'étude.....	107
4.1.2	Description des exploitations.....	110
4.1.3	Animaux	112
4.1.4	Protocole expérimental.....	113
4.1.4.1	Palpation transrectale et échographie ovarienne.....	113
4.1.4.2	Notation de l'état corporel.....	115

4.1.4.3 Dosages hormonaux et biochimiques.....	115
4.1.4.4 Traitement du kyste ovarien.....	116
4.1.4.5 Contrôle de l'activité ovarienne après traitement.....	117
4.1.5 Analyses statistiques.....	117
4.2 Résultats.....	118
4.2.1 Fréquence des kystes ovariens	118
4.2.2 Résultats du traitement des kystes ovariens.....	122
4.2.3 Concentrations des paramètres métaboliques.....	124
4.2.4. Comparaison des concentrations des paramètres métaboliques dans le liquide folliculaire et le sérum.....	125
4.3 Discussion.....	129
Conclusion.....	141
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	143

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Représentation schématique de.....15 l'évolution d'un follicule [433]
Figure 1.2	Variations hormonales et ovariennes17 au cours du cycle œstral [118]
Figure 1.3	Modèle montrant l'effet d'une concentration.....24 intermédiaire de P4 dans la formation du KO [16]
Figure 1.4	Représentation schématique de la pathogénie.....35 du KO avec ses différentes voies possibles [13]
Figure 2.1	Matériels utilisés dans la réalisation.....47 de l'étude histologique
Figure 2.2	Embryons et fœtus.....48
Figure 2.3	Répartition des résultats de l'étude macroscopique.....49 des tractus génitaux de vaches en post-mortem
Figure 2.4	Infections utérines50
Figure 2.5	Tumeurs utérines.....51
Figure 2.6	Anomalies congénitales de l'utérus.....52

Figure 2.7	Répartition et fréquence des lésions de l'oviducte.....	53
Figure 2.8	Lésions des oviductes.....	54
Figure 2.9	Répartition et fréquence des lésions de l'ovaire.....	55
Figure 2.10	Kystes ovariens.....	56
Figure 2.11	Ovarites.....	57
Figure 2.12	Tumeur ovarienne (Tumeurs des cellules de la granulosa 1)	58
Figure 2.13	Tumeur ovarienne..... (Tumeur des cellules de la granulosa 2)	59
Figure 2.14	Tumeur ovarienne..... (Tumeur des cellules Sertoli-Leydig)	60
Figure 2.15	Tumeur ovarienne..... (Cystadénome ovarien)	61
Figure 2.16	Caractéristiques macroscopiques des KO.....	63
Figure 2.17	Aspect histologique du follicule et du corps jaune.....	65
Figure 2.18	Aspect histopathologique des Kystes folliculaires.....	67

Figure 2.19	Aspect histopathologique des Kystes lutéaux.....	68
Figure 2.20	Aspect histologique de l'utérus en cas de KF.....	70
Figure 2.21	Aspect histologique de l'utérus en cas de KL.....	71
Figure 3.1	Automate Architect plus ci 4100- ABBOTT.....	82
Figure 3.2	Microscope optique avec caméra numérique intégrée..... Service d'Anatomie Pathologique, CHU Douira, Alger	86
Figure 3.3	Expression immunohistochimique à l'anticorps anti-vimentine.....	91
Figure 3.4	Expression immunohistochimique à l'anticorps anti-inhibine α	92
Figure 3.5	Expression immunohistochimique à l'anticorps anti-VEGF	93
Figure 3.6	Expression immunohistochimique..... à l'anticorps anti-BcL2	94
Figure 3.7	Expression immunohistochimique à l'anticorps anti-Bax et anti-cyclineD 1	95
Figure 4.1	Situation géographique de la zone d'étude.....	109
Figure 4.2	Quelques exploitations visitées.....	111

Figure 4.3	Animal présentant une tumeur utérine,.....	112
	exclu de l'étude	
Figure 4.4	Méthode de mesure des dimensions	114
	d'une structure ovarienne	
Figure 4.5	Image échographique du KF	119
Figure 4.6	Image échographique du KL.....	119
Figure 4.7	Répartition des kystes ovariens	120
	selon le rang de lactation	
Figure 4.8	Répartition des kystes ovariens	120
	selon le comportement de l'animal	
Figure 4.9	Répartition des kystes ovariens.....	120
	selon la race	
Figure 4.10	Production laitière et BCS des animaux	121
	cyclés et kystiques	
Figure 4.11	Gestation confirmée par échographie.....	124
Figure 4.12	Concentrations du glucose dans.....	126
	le liquide folliculaire et le sérum	
Figure 4.13	Concentrations de l'insuline dans	127
	le liquide folliculaire et le sérum	

Figure 4.14	Concentrations des protéines totales.....	127
	dans le liquide folliculaire et le sérum	
Figure 4.15	Concentrations du cholestérol total dans.....	128
	le liquide folliculaire et le sérum	
Figure 4.16	Concentrations du cortisol dans le liquide.....	128
	folliculaire et le sérum	
Figure 4.17	Concentrations d'urée dans le liquide	129
	folliculaire et le sérum	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1	Rôle des hormones hypothalamo-hypophysaires	20
	[138]	
Tableau 1.2	Profil hormonal du liquid folliculaire aspiré	28
	à partir des follicules préovulatoire et subordonné et des KO [85]	
Tableau 1.3	Composants en excès dans le liquide kystique.....	34
	et leurs rôles cités par différents auteurs	
Tableau 1.4	Comparaison des résultats obtenus	38
	lors de l'aspiration du contenu des kystes ovariens	
Tableau 1.5	Résultats obtenus après traitements	41

hormonaux des KO [247]

Tableau 1.6	Médicaments, doses, voies d'administration.....42 et protocoles pour le traitement du KO [11]
Tableau 2.1	Répartition et fréquence des kystes ovariens62 selon les caractéristiques macroscopiques et la saison
Tableau 2.2	Répartition et fréquence des kystes65 selon les caractéristiques microscopiques de leurs parois
Tableau 2.3	Répartition des utéri selon les caractéristiques69 de leurs parois, correspondants à des ovaires kystiques
Tableau 3.1	Source, type et dilution des anticorps83 utilisés dans l'analyse immunohistochimique
Tableau 3.2	Concentrations des différents paramètres88 biochimiques dans le liquide folliculaire et kystique chez la vache
Tableau 3.3	Concentrations moyennes des stéroïdes89 majeurs dans les liquides folliculaires et kystiques
Tableau 3.4	Taux des stéroïdes dans le liquide contenu89 dans les tumeurs ovariennes

Tableau 4.1	Diagnostic différentiel des organites ovariens114 par échographie chez la vache
Tableau 4.2	Classification des kystes ovariens118 selon le diagnostic utilisé
Tableau 4.3	Description des kystes ovariens.....122
Tableau 4.3	Résultats du traitement des kystes ovariens..... 123
Tableau 4.4	Taux sérique des paramètres métaboliques.....125 chez des vaches kystiques et cyclées et les valeurs normales de ces métabolites rapportées dans la littérature

INTRODUCTION GENERALE

Les performances de reproduction des vaches sont l'une des préoccupations majeures des éleveurs et de leurs encadreurs techniques, d'autant qu'elles ont tendance à diminuer d'année en année au sein des exploitations laitières à travers le monde [425, 442]. Ces performances jouent un rôle clé dans l'économie des élevages non seulement en déterminant le rendement des animaux mais aussi la décision de sélection et de réforme. Idéalement, l'intervalle vêlage-vêlage devrait être d'un an, pour que l'animal soit plus rentable [6,158]. Cependant, l'évolution de ce paramètre montre une franche dégradation, ce qui entraîne nécessairement une augmentation des charges de l'exploitation: coûts économiques des inséminations supplémentaires, temps perdu à cause des échecs d'insémination, ou encore réforme d'animaux à performances réduites. Ces mauvais résultats peuvent être reliés, dans la majorité des cas, à la détérioration de la fertilité qui est particulièrement constatée chez les animaux de race Prim'Holstein [405]. Celle-ci peut être la conséquence de l'amélioration génétique pour la production laitière et la modification des conditions d'élevage [31, 181].

L'investigation des problèmes de l'infertilité/l'infécondité s'avère complexe. Ces 02 paramètres sont considérés comme étant 02 exemples d'entités pathologiques à impact économique négatif, qualifiées de 'maladies de production', se caractérisant par leur manifestation subclinique, leur origine multifactorielle, et leurs conséquences économiques souvent redoutables [316]. Dans les meilleures conditions d'élevage, de 4 à 8% et même jusqu'à 15.6% des vaches laitières souffrent d'infertilité [443]. Des études épidémiologiques ont suggéré que les facteurs pathologiques (mammites, rétention placentaire, kystes ovariens) ont plus d'effet sur la fertilité par rapport à d'autres facteurs non pathologiques notamment le BCS et la production laitière [181].

En Algérie, les études relatives à l'évaluation des paramètres de reproduction, ont permis de constater que la mise à la reproduction des vaches en post-partum est tardive, dépassant largement les normes [444, 445]. Selon Belkhiri [444], la sous-alimentation incarne la source du problème. D'autres travaux ont été consacrés pour étudier la cyclicité et la reprise de l'activité ovarienne PP [446, 447], ainsi que la relation de celle-ci avec le statut nutritionnel de l'animal [448, 449]. Cependant, bien que les phénomènes pathologiques de la reproduction constituent

un problème important en industrie bovine [443], très peu de connaissances sont disponibles actuellement sur la nature de ces pathologies ainsi que sur leur fréquence réelle dans nos élevages. Parmi ces pathologies, le kyste ovarien qui constitue l'un des facteurs majeurs affectant la fertilité de l'élevage bovin laitier vu sa répercussion sur les performances de reproduction et l'économie de l'élevage [1-5]. L'allongement de l'intervalle vêlage-vêlage et les coûts du traitement liés à cette pathologie sont à l'origine des pertes économiques pour l'industrie laitière [6]. Ces dernières décennies, le KO a fait l'objet de plusieurs études relatives à ses caractéristiques cliniques [7], son étio-pathogénie [8-10], son diagnostic et son traitement [11, 12]. Malgré les différentes recherches, certains aspects du KO surtout sa pathogénie demeurent malconnus et peu concluants, comme par exemple, le manque d'une définition précise [13].

C'est dans ce contexte qu'il nous a paru intéressant d'y mener une étude approfondie.

L'objectif général du travail était d'apporter une contribution originale à la connaissance des kystes ovariens (KO) chez la vache en Algérie.

Les objectifs spécifiques assignés à cette thèse ont été :

1/ Etude post-mortem :

- Déterminer la fréquence des kystes ovariens en *ex vivo*.
- Evaluer le profil métabolique à travers le dosage de certains paramètres biochimiques dans le liquide kystique.
- Diagnostiquer par différentes méthodes les types du kyste ovarien (Histologie et dosage des stéroïdes majeurs).
- Identifier par Immunohistochimie l'expression de certains facteurs pouvant être impliqués dans la pathogénie du KO.

2/ Etude clinique des KO dans la Mitidja

- Déterminer la fréquence des KO dans quelques élevages de la Mitidja
- Comparer les méthodes de diagnostic des KO (palpation transrectale, échographie transrectale et dosage de la progestérone), de même que l'efficacité thérapeutique de certains traitements.
- Enfin, étudier le bilan énergétique et azoté des vaches kystiques par le dosage sanguin des métabolites et l'évaluation du BCS.

CHAPITRE 1

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES SUR LES KYSTES OVARIENS CHEZ LA VACHE

CHAPITRE 1

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES SUR LES KYSTES OVARIENS CHEZ LA VACHE

1.1 Définition

Dès 1831, des follicules ovariens anormalement grands, qui n'ont pas ovulé et qui ont eu comme conséquence une altération de l'activité cyclique, un changement du comportement sexuel et une subfertilité, ont conditionné la dénomination : "kyste ovarien" ou "maladie kystique ovarienne", sachant que Mc Mutt fut le premier à utiliser le terme kystique en référence à des follicules persistants, d'un diamètre > à 20mm [14].

Récemment, le kyste ovarien se définit comme une structure folliculaire anovulatoire [15-17], d'un diamètre > à 20mm [18-20] ou bien \geq à 25mm, persistant au moins 10 jours sur l'ovaire en absence d'un corps jaune fonctionnel [8, 10, 21-25]. Il peut se produire chez plusieurs espèces animale (vache, brebis, chèvre, truie, chienne et rongeurs) et humaine [26-28].

Certains auteurs retiennent la même définition mais la notion du nombre diffère ; Calder et al. [29] définissent le kyste comme étant une structure folliculaire unique, > à 20mm de diamètre ou comme des structures multiples de diamètre > à 15mm, persistant au moins 7 jours avec une faible concentration en P4. D'autres auteurs proposent comme kystique, un follicule ovarien qui a au moins 17mm de diamètre, persistant plus de 6 jours, en absence d'une structure lutéale détectable par ultrasonographie [16, 30-32]. Cet examen indique que le follicule ovule typiquement à 13-17mm et persiste à ce stade préovulatoire durant 5-6 jours, donc, tout follicule persistant à 17mm ou plus est considéré kystique [16].

On constate que la définition du kyste ovarien diffère selon les auteurs et en pratique, les vétérinaires, généralement, n'effectuent pas un second examen à l'animal dans les 10 jours qui suivent le diagnostic initial du kyste pour accomplir tous les termes de la définition [8]. De même, la signification de la présence d'un corps jaune est également difficile à évaluer. On peut encore palper certains kystes après l'ovulation d'un autre follicule et la formation subséquente d'un corps jaune,

ce qui indique qu'ils ne sont pas fonctionnels [33]. Inversement, un kyste en développement peut également être associé à la régression du corps jaune [34].

1.2 Synonymie

Kyste ovarien, follicule kystique, dégénérescence kystique ovarienne ou encore Maladie Kystique Ovarienne (MKO) (ou Cystic Ovarian Disease (COD)) sont les différentes appellations générales qui ont été consacrées à cette pathologie. Selon certains auteurs, le terme "COD ou MKO" ne semble plus être approprié et devrait être remplacé par "follicule ovarien kystique" qui n'implique pas nécessairement un état de maladie et on préfère ce terme au lieu de "kyste ovarien" parce qu'il indique que c'est le follicule ovarien et non pas un autre tissu ovarien qui devient kystique [8, 31].

1.3 Classification

Selon leurs caractères fonctionnels (production de stéroïdes) ou structurels, les kystes ovariens peuvent être classifiés en: kyste folliculaire (KF) et kyste lutéal (KL) [8,16, 24, 35-39].

Le kyste lutéal secrète des quantités variables de P4 [35]. En général, il est associé relativement à des concentrations élevées en cette hormone dans la circulation périphérique. Quant au kyste folliculaire, il produit peu de P4 et secrète davantage de l'œstradiol [16, 35] à des quantités similaires à celles d'un follicule normal [36].

Les KF peuvent être distingués également des KL par palpation rectale ou ultrasonographie [40-42]. Ils ont une paroi mince [8], peuvent être uniques ou multiples et affectent l'un ou les 2 ovaires à la fois [18, 36, 38, 43].

Les KL sont à paroi épaisse (> à 3mm) [8] qui s'est suffisamment lutéinisée, donc visible ultrasonographiquement comme étant une structure échogène [16, 8]. Ces kystes sont normalement uniques sur un ovaire [43, 18, 36, 38]. Ils sont des KF à un stade tardif. Dans ce type de kyste, les cellules thécales [44] et granuleuses se lutéinisent spontanément et secrètent de la P4 [35, 8, 45].

Les KF sont plus communs que les KL [35] ; la plupart des kystes (70%) sont des KF [43]. Zemjanis [46] et Carroll et al. [47] ont rapporté qu'environ 30 et 42% des kystes, respectivement, sont lutéaux.

Une autre condition, le corps jaune cavitaire (CJC), est souvent confondue avec le KL [8, 35]. C'est une autre forme d'un corps jaune normal. Plus précisément, c'est juste un corps jaune qui se produit après l'ovulation avec une cavité centrale de différentes tailles, remplie de liquide [8, 35]. La cavité est de 7-10 mm de diamètre [48]. L'examen ultrasonographique permet de distinguer entre le KL et le CJC [8, 49, 50]. Certains chercheurs n'ont pas trouvé des CJC chez des vaches gestantes et ils ont conclu que ce CJ ne pourrait pas supporter la gestation, bien que d'autres rapportent qu'un CJ a besoin de produire uniquement environ 100µg de P4 pour le maintien de la gestation, par conséquent, le CJC peut maintenir un état gravidique [14] (En accord avec les résultats de Roberts [48]).

Kastelic et al. [51] ont rapporté après examen ultrasonographique des génisses, que 79% des autres formes d'un corps jaune normal contiennent des cavités qui ont moins de 2 jusqu'à plus de 10 mm de diamètre à un moment donné du cycle œstral et en début de gestation. En absence de gestation, le CJC régresse et il est considéré comme non pathologique tant qu'il n'altère pas la durée du cycle et n'affecte pas la fertilité [8, 14, 35].

1.4 Incidence et conséquences

L'incidence des kystes ovariens indiquée après un diagnostic établi par palpation manuelle était approximativement de 6-20% jusqu'à 30% [2, 7, 16, 24, 35, 38, 52-56], avec une fréquence moyenne de 10-15% [29, 35, 57].

Dans des études plus récentes, l'incidence détectée après dosage hormonal ou par examen ultrasonographique étant de 18-29% [58-60]. Cette valeur peut être plus élevée étant donné que plus de 60% des vaches qui développent des kystes avant la première ovulation qui suit le PP guérissent spontanément [1, 2, 7, 35].

Selon le rang du vêlage, l'âge et la production animale, Allrich [38] a rapporté les fréquences suivantes : Les pluripares : 39%, les primipares : 11%, les génisses pubères : 3-6%. Les vaches à production viandeuse ont relativement une incidence faible.

Osmanu [61] a trouvé que les 26% des vaches infertiles au Ghana, avaient comme cause majeure, les kystes ovariens. Au Canada, les données regroupées

provenant de différentes études (comprenant 24356 lactations) ont indiqué une incidence moyenne de 9.3% [11].

Selon une étude réalisée par Silvia et al. [16], 47% des vaches kystiques ont deux ou plusieurs kystes au moment de leur première détection et que l'ovaire polykystique est beaucoup plus commun que la production des ovulations multiples chez les vaches normales.

Il est déterminé que le pourcentage des vaches laitières qui vont développer des KO une seule fois durant leur vie est de 10 à 14% et pour celles qui vont être atteintes d'une manière chronique par cette pathologie, la fréquence est de 35% [7].

On peut conclure qu'il existe une grande divergence entre les auteurs concernant la fréquence des KO qui peut être expliquée par les critères de définition et méthodes de diagnostic du KO utilisés lors du dépistage, ainsi que par le nombre d'animaux examinés. Les données regroupant les différentes fréquences mesurées dans plusieurs études sont élucidées en annexe 1.

Selon Kaikimi et al. [62], l'ovaire droit est plus affecté (5.1%) que l'ovaire gauche (1.2%) et l'atteinte simultanée des 2 ovaires est estimée par une fréquence de 0.5%.

Les KO sont plus communs durant les premiers 60 jours suivant le vêlage [8, 43]. Dans 70% des cas, les KO se produisent entre 16-50j PP avec une moyenne de 30-40j [63]. Nanda et al. [64] ont noté une fréquence élevée des KO dans les 20-150j PP.

Les vagues de croissance folliculaire se produisent chez les vaches kystiques avec un intervalle plus long ou plus irrégulier que chez les vaches normales [65, 66]. En effet, les effets indésirables de cette affection sur la fertilité sont liés à l'augmentation de l'intervalle vêlage-vêlage de 22 à 64j [16, 35], à l'augmentation des intervalles vêlage-1^{ère} insémination et vêlage-conception (environ 13 et 33j additionnels, respectivement) [11]. D'après Savio et al. [67], les intervalles [vêlage-1^{ère} ovulation] chez des vaches ayant des KO et des vaches normales sont de 58j et 12j respectivement. Le nombre d'insémination par conception augmente d'environ 0.8 insémination additionnelle comparativement aux autres vaches du

troupeau non affectées, et la probabilité de réformer une vache qui était atteinte est 20 à 50% plus élevée.

Dans une étude menée aux États-Unis, le coût de cette affection a été estimé par une somme de 137\$ par lactation, lorsque les effets sur la fertilité et les coûts des services vétérinaires, du traitement, de la main-d'œuvre et de la réforme étaient pris en considération. La production laitière plus importante chez les vaches affectées, ne compensait pas ces coûts et la perte nette était de 39\$ [11].

1.5 Devenir du Kyste ovarien

Les KO sont des structures dynamiques qui peuvent régresser et être remplacés par de nouveaux kystes [18, 31, 34, 66, 68]. Les facteurs qui déterminent si le KO régresse ou non, sont encore malconnus [7, 31, 69].

D'après les travaux de Cook et al. [68] réalisés sur les ovaires de 23 vaches kystiques, marqués au charbon de bois et ensuite enlevés à 10, 20 et 40 jours plus tard, 3 évolutions différentes sont observées :

- ✓ Dans 3 cas, le KO persiste avec une taille \geq à celle précédemment observée.
- ✓ Dans la plupart des cas (20/23), les kystes régressent et sont remplacés par d'autres follicules qui ovulent dans 7 cas sur 23 ou se transforment à nouveau en une structure kystique (13/23).
- ✓ Aucun kyste n'ovule.

La nouvelle ovulation fut observée sur le même ovaire ou sur l'ovaire controlatéral.

De ce fait, un faible pourcentage des KF persistent et sont classifiés sous le nom de "kystes chroniques" (Ce diagnostic précis du KO peut être difficile et constitue un véritable challenge aux vétérinaires praticiens) [54].

Dans une autre étude expérimentale, Silvia et al. [16] ont trouvé que 51% des follicules de diamètre \geq à 10mm, coexistant avec un KF, deviennent eux-mêmes kystiques.

Le phénomène de remplacement est appelé : « cycle de renouvellement des kystes » (Turnover of cyst) qui est considéré comme un problème très sérieux, et est d'une période dépassant la durée d'un cycle oestral normal [70].

L'explication de ce phénomène demeure inconnue ; une possibilité est que les conditions physiologiques qui conduisent à la formation du KO initial sont encore présentes. Il est encore possible que la présence du KO prédispose l'évolution du follicule en une structure kystique.

Pour cela, il est important de comprendre comment est formé le KO original ? Et comment permet-il la formation des KO additionnels ? Il est important aussi de rappeler que le devenir des follicules est étroitement corrélé avec la concentration en P4. Des travaux ont montré que 66% des vaches avec des KF avaient des concentrations en P4 dites intermédiaires (0.1-1 ng/ml) au moment de leur détection. La majorité des nouveaux follicules (76%) qui se développent en présence de cette concentration deviennent kystiques. Uniquement, 10% ovulent [16, 71].

1.6 Symptômes et diagnostic

Le KO peut s'accompagner d'un état d'œstrus permanent ce qui justifie son association à la nymphomanie ou au plus tard, au virilisme mais les signes d'anoestrus sont les plus fréquents [35, 31] avec une incidence de 62% à 85% [72].

Habituellement, l'apparence physique des vaches atteintes n'est pas différente des vaches normales, bien que les symptômes généraux qui peuvent être associés avec cette pathologie sont variables: absence de tonicité au niveau du tractus génital, relâchement des ligaments pelviens, élévation de l'attache de la queue, brusque changement de la production laitière et développement des caractéristiques masculines [31, 38].

A la palpation transrectale, le KF a une paroi mince, fluctuant au toucher. Le KL a une paroi épaisse [73] et est plus ferme à la palpation que le KF bien qu'il ne soit pas solide comme le CJ [14]. Le CJC ressemble à un corps jaune normal mais plus fluctuant, doux et formé après l'ovulation [48].

La palpation transrectale est la méthode la plus fréquemment utilisée quoiqu'elle ne permette pas de différencier précisément entre les KF et les KL [40] et les études ont démontré que l'on peut établir un diagnostic précis dans seulement 50% des cas [37, 41]. Des diagnostics faussement positifs puissent être établis dans environ

10% des cas en raison de la présence de gros follicules adjacents à un corps jaune ou d'un CJC de grande taille.

La palpation de l'utérus peut apporter des renseignements complémentaires. Le KF peut s'accompagner d'un état œdémateux de l'utérus ce qui le rend ferme ou dans 4% des cas de mucomètre (1 litre environ). On peut palper un utérus flasque en cas de KL. En cas d'hyperoestrus, la muqueuse vaginale peut être congestionnée et le col est plus ou moins sécrétant. Dans 60% des cas, il est suffisamment ouvert pour laisser passer un doigt voire un pouce dans 16% des cas [74].

L'échographie est une méthode plus fiable pour diagnostiquer le KO, étant donné que l'on peut visualiser les structures ovariennes. On peut facilement distinguer un CJC d'un KO, sachant que le diamètre maximal de la cavité centrale du CJC est $<$ à 20mm [75].

Le KF est anéchogène et a une paroi d'épaisseur $<$ à 3 mm [76]. Le KL possède à sa périphérie du tissu lutéal, de forme plus ou moins régulière, entourant une cavité centrale anéchogène, d'un diamètre de 37.6 mm [37], \geq à 20 voire 25 mm [47, 41]. L'épaisseur moyenne de la paroi est de 5.3mm et comprise entre 3 et 9 mm [37] comparée à celle du CJC qui est $>$ à 5 voire 10 mm [77].

La présence des follicules de diamètre $>$ à 5mm est plus fréquemment observée en cas de KL, ce qui constitue un signe complémentaire de diagnostic différentiel [37].

En utilisant ces critères, on peut établir un diagnostic correct dans environ 85% des cas [37, 41]. De ce fait, l'examen échographique est beaucoup plus précis pour le diagnostic du type du KO que la palpation manuelle du fait de sa capacité à détecter les structures lutéales [78].

L'échographie peut être combinée à une analyse du taux de P4 circulante, afin d'améliorer la précision du diagnostic (elle est de 92% pour le KF, 82% pour le KL [37].

Le KF est associé typiquement à une concentration plasmatique de P4 $<$ à 1ng/ml. Cependant, des concentrations qui varient de 0.5 à 5 ng/ml ont été utilisés

comme des concentrations maximales en P4 pour un KF [41, 76]. Une concentration plasmatique moyenne en P4 de 0.29 ng/ml a été mentionnée par Douthwaite et Dobson [37].

Le KL s'accompagne d'une concentration plasmatique minimale $>$ à 1ng/ml [24, 79, 80]. Néanmoins, des concentrations en P4 $>$ à 0 ng/ml (plasma) jusqu'à 10 ng/ml (lait) ont été utilisées [76].

L'analyse du taux de P4 n'est pas toujours pratique ou faisable. Les données dans la littérature sur le type du KO dont la prévalence est la plus élevée, de même que les valeurs seuils utilisées varient considérablement. En addition, l'existence de formes intermédiaires avec une lutéinisation limitée ou extensive ne permet pas une claire identification du type du KO qui reste toujours subjective aux interprétations personnelles [8].

Considérant un seuil \geq à 1ng/ml ou $<$ à 1ng/ml de P4 plasmatique durant une période de 10j en absence de CJ, Carroll et al. [47] et Bartolome et al. [81] ont identifié comme KF, toute structure de diamètre $>$ à 25mm et $>$ à 18mm dans 58% et 73% des cas, respectivement.

Dans le lait, une valeur seuil de 2 ng/ml a été prise en compte par certains auteurs en utilisant le système RIA [82] et une valeur de 1 [83] voire 5 ng/ml [84] lors d'un dosage effectué par la méthode Elisa.

Peu de travaux ont été publiés concernant le dosage des stéroïdes dans le liquide kystique mais nous retenons ce que Braw-Tal et al. [85] ont considéré comme valeurs seuils ; pour le KF, une valeur $>$ à 100 ng/ml d'œstradiol et pour le KL, une valeur $>$ à 100 ng/ml de P4.

Les vaches ayant des CJC ont des concentrations en P4 dans le plasma et dans le tissu lutéal indifférentes de la taille de la cavité [51, 86]. Dans une étude menée à l'abattoir, le CJC avait des concentrations en P4 plus élevées par gramme du tissu lutéal en comparaison à un corps jaune non cavitaire.

Il faut signaler que l'épaisseur de la paroi dans tous les types du kyste possède une corrélation positive avec la concentration de P4 dans le plasma [37]. L'intérêt du dosage réside dans l'évaluation du degré de lutéinisation de la structure kystique

présente [87, 83] (42% des KF diagnostiqués par palpation manuelle ont été considérés ensuite des KL lors de dosage de P4 dans le lait selon Ax et al. [88], bien que ni l'ultrason ni le dosage de P4 ne nous permettent de préciser l'âge du tissu lutéal (KO ou CJ) [47].

Les études histologiques indiquent que le KO possède une morphologie similaire au follicule atrétique [88]. Chez les bovins, le KF présente des degrés variables d'épaississement et de dégénérescence des cellules thécales et granuleuses [74].

Plus récemment, Braw-Tal et al. [85] et Polat et al. [10] décrivent les changements morphologiques qui s'observent en parallèle avec le type et le stade de formation du kyste :

- ❖ Type 1 : représente des kystes jeunes (récemment formés ou KF)
 - ✓ Ils sont caractérisés par une disparition partielle des cellules granuleuses bien que les noyaux pycnotiques sont rarement observés. Les cellules granuleuses restantes préservent leur morphologie et leur fonction.
 - ✓ La membrane basale est partiellement interrompue et permet aux cellules de la granulosa d'envahir la thèque interne.
 - ✓ Les cellules thécales (Thèque interne) sont hypertrophiées, gonflées, contenant un noyau rond et large. Ces cellules perdent leur arrangement caractéristique, parallèle à la membrane basale mais conservent toujours leur activité sécrétoire ce qui confirme les travaux de Hamilton et al. [66] qui rapportent que les kystes peuvent rester fonctionnels pour une période prolongée. Ces résultats confirment aussi les travaux de certains chercheurs qui ont prouvé que les changements qui se produisent durant ce stade du kyste diffèrent à ceux observés lors de l'atrésie folliculaire.

Le mécanisme impliqué dans ces modifications n'est pas clair actuellement.

- ❖ Type2 : représente le KL
 - Ils ont une à 2 couches de cellules granuleuses aplaties qui entourent la cavité du KO.
 - La membrane basale est absente.

- Les cellules thécales se lutéinisent.
- Le liquide folliculaire contient une concentration élevée en P4.

La cascade des évènements conduisant à cette lutéinisation demeure obscure.

- ❖ Type 3 : représente des kystes à un stade très avancé de formation (Kyste dégénératif) (Braw-tal et al. [85])
 - Absence complète des cellules granuleuses.
 - Les cellules thécales ne sont pas souvent reconnaissables morphologiquement, elles sont gonflées, avec un noyau foncé et petit et fréquemment infiltrées par un tissu fibreux.
 - Le niveau des hormones intrafolliculaires est négligeable.

1.7 Pathogénie du kyste ovarien

Le kyste ovarien est le résultat d'une absence d'ovulation du follicule dominant ou d'une absence de régression des follicules sélectionnés. Actuellement, le mécanisme provoquant l'apparition du KO n'est pas encore entièrement expliqué. Il est possible que plusieurs mécanismes coexistent. Dans l'objectif de mieux appréhender la pathogénie du kyste ovarien, la physiologie de la cinétique folliculaire et sa régulation hormonale vont être décrites dans un premier temps. Dans un second temps, les principales causes de formation des kystes ovariens vont également être abordées.

1.7.1 Activité cyclique de l'ovaire

L'activité sexuelle cyclique chez la vache est définie par l'alternance de deux phases, l'une de croissance folliculaire et l'autre lutéale [90]. Les structures impliquées dans cette alternance sont le complexe hypothalamo-hypophysaire, l'ovaire et l'utérus, qui ont des actions distinctes sur la chronologie de la succession de ces événements [91].

1.7.1.1. Folliculogénèse

Elle désigne l'ensemble des phénomènes régissant le développement du follicule depuis sa sortie de la réserve ovarienne, constituée durant la vie embryonnaire, jusqu'à l'ovulation ou l'atrésie [91, 3]. Il s'agit d'un phénomène constitué de deux phases :

- une phase non gonado-dépendante : phase à croissance continue concernant plusieurs follicules durant plusieurs mois ;
- une phase gonado-dépendante : phase à caractère cyclique sous forme de vagues folliculaires.

Trois éléments peuvent caractériser la croissance folliculaire, sa durée, évaluée à cinq mois chez la vache, le faible nombre de follicules parvenant jusqu'à l'ovulation et le parfait parallélisme entre la croissance folliculaire et l'acquisition de la compétence ovocytaire [92].

❖ Phase non-gonado-dépendante

Pendant cette phase, 50 à 80 follicules primordiaux quittent la réserve pour former des follicules primaires (60 à 80 μm), secondaires (200 à 400 μm) puis tertiaires [91] (Figure 1.1). Certains parmi eux subissent une atrésie à différents

stades [93]. Ainsi, le début de la croissance folliculaire semble être indépendant de l'action des gonadotropines LH et FSH et semble être régulé par un complexe endocrinien, notamment, des facteurs de croissance somatiques et locaux qui contrôlent la croissance basale du follicule jusqu'au stade antral [94, 95]. Le GDF-9 (*Growth differentiation factor 9*) qui initie la croissance folliculaire jusqu'au stade de follicule secondaire, est le principal facteur somatique tandis que les facteurs de croissance ovariens sont essentiellement représentés par le TGF- α (*Transforming growth factor α*), produit par la granulosa des follicules en début de croissance [96]. En effet, lors de cette étape, les cellules de la granulosa entrent en prolifération et synthétisent de nombreux facteurs de croissance et des cytokines. Concernant les cellules de la thèque interne, elles expriment dès leur formation des facteurs de croissance, des récepteurs de LH, des enzymes et des facteurs clés de la stéroïdogénèse permettant la synthèse de progestagènes et d'androgènes [3].

Enfin, lors de cette période, les cellules de la granulosa acquièrent des récepteurs à FSH. Cette acquisition permet au follicule de répondre à une future stimulation gonadotrope [91].

❖ Phase gonado-dépendante

Cette phase est caractérisée par la transformation du follicule tertiaire (3-5 mm) en follicule préovulatoire (20 mm) (Figure 1.1). Lorsque le follicule tertiaire atteint un diamètre de 4 mm environ, il passe d'une croissance de type continu à une croissance de type cyclique, sous forme de vagues folliculaires, dépendante des variations des hormones gonadotropes [97, 98].

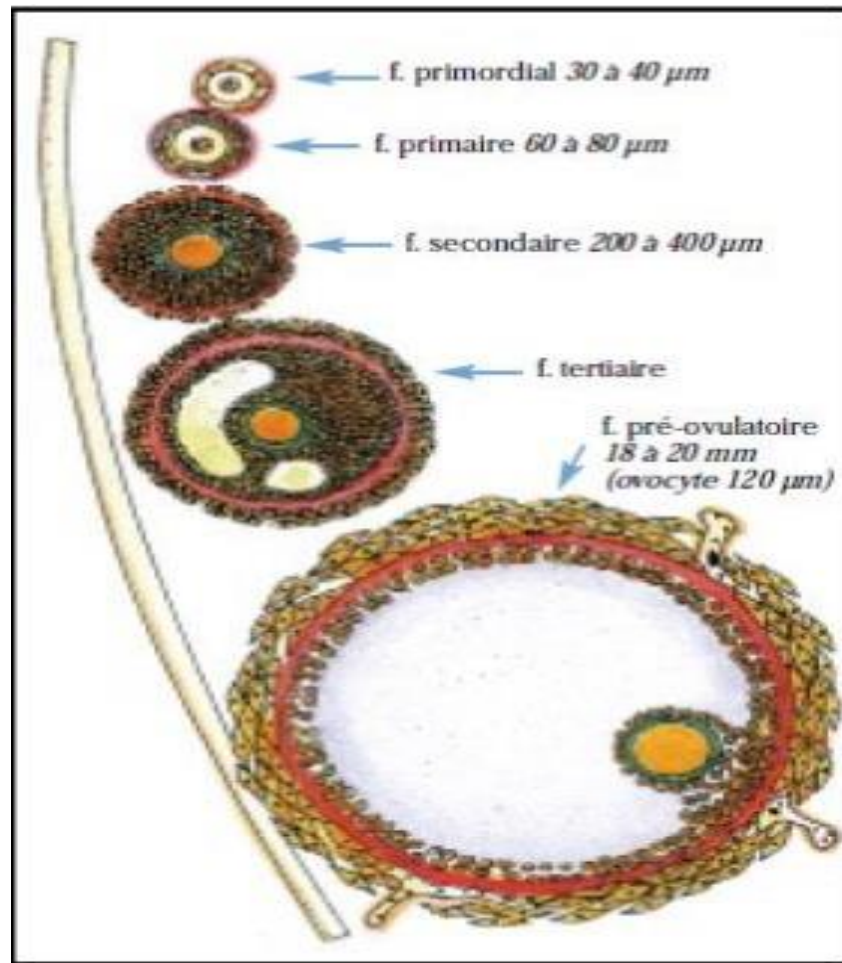


Figure 1.1 : Représentation schématique de l'évolution d'un follicule [91]

1.7.1.2. Mécanismes des vagues folliculaires

a) notion de vague folliculaire

Des études échographiques ont prouvé que le développement folliculaire évolue sous la forme de vagues de croissance et de dégénérescence successives de follicules [99]. Une vague dure environ 7 à 9 jours, et elle est caractérisée par l'émergence de plusieurs follicules de diamètre au moins égal à 5mm parmi lesquels apparaît le follicule dit dominant [100, 101].

On observe chez la vache 2 à 3 vagues folliculaires par cycle œstral complet (avec des extrêmes de 1 à 4), le follicule ovulatoire étant issu de la dernière vague [98, 100, 102-108]. En cas d'émergence de 3 vagues, elles débiteront aux jours 2, 9 et 16 du cycle; si celui ne comporte que 2 vagues, elles apparaissent aux jours 2 et 11 [100, 102, 105, 30, 106]. La tendance chez les vaches laitières à fort potentiel

laitier, telles que les Prim'Holstein, est d'avoir des cycles à 2 vagues [109] contrairement aux génisses laitières et aux vaches allaitantes qui ont une prédominance des cycles à 3 vagues [30]. Ennuyer [110] ajoute que les cycles à 2 vagues sont plus retrouvés chez les vaches adultes alors que ceux à 3 vagues sont plus fréquents chez les génisses et débuteraient aux jours 2, 8 et 14 du cycle. Ces vagues sont également décrites en période prépubertaire [111], en post-partum [112] et durant les 45 voire les 70 premiers jours de la gestation [30, 112]. Il est à noter que ces vagues intéressent des follicules provenant des 2 ovaires évoluant de manière synchronisée, répondant aux variations hormonales systémiques et locales comme une seule entité [113].

b) dynamique/étapes d'une vague folliculaire

Les vagues sont segmentées en 3 étapes : recrutement, sélection et dominance (Figure 1.2). Ce n'est qu'en 1980 que leurs concepts furent ainsi proposés pour les primates [114]. Leurs études histologiques *in vitro* ont par la suite été confirmées *in vivo* chez la vache par échographie et chez la brebis par marquage à l'encre des follicules [116, 117].

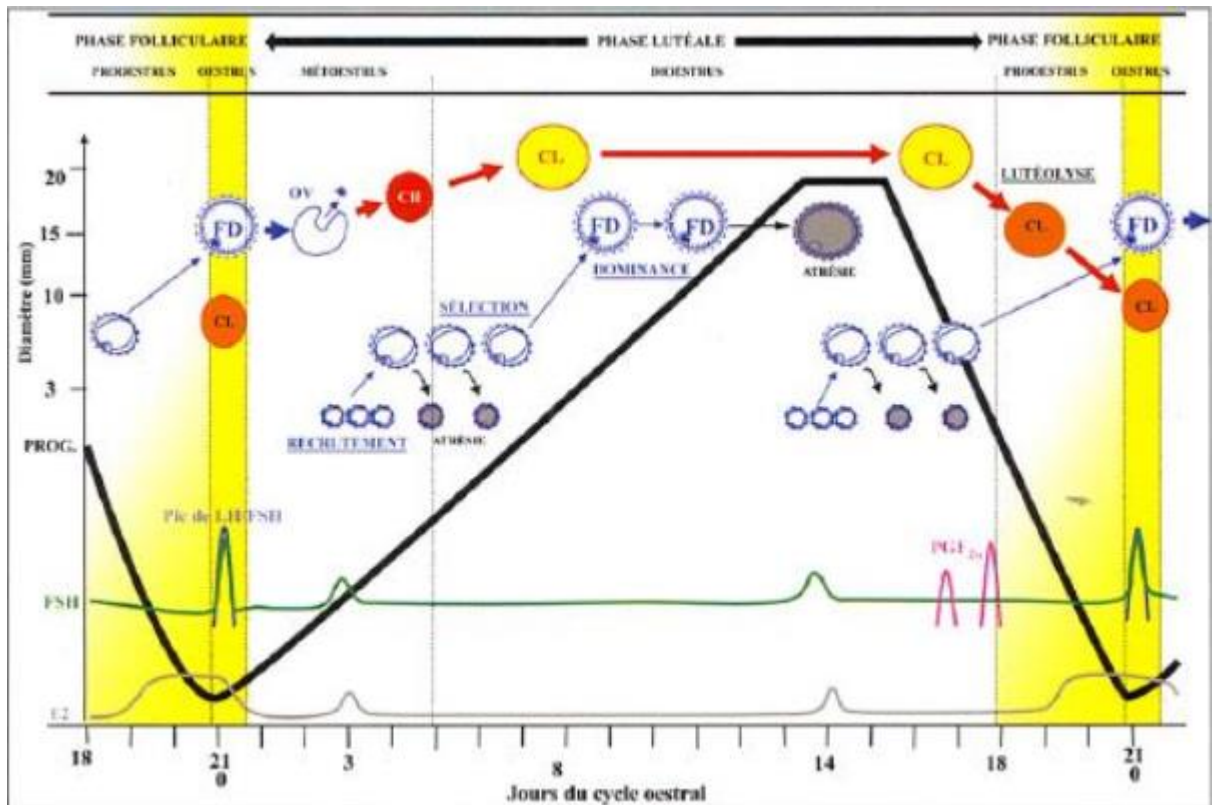


Figure 1.2 : Variations hormonales et ovariennes au cours du cycle oestral [118]
 CL : corps lutéal ; FD : follicule dominant ; CH : corps hémorragique ; OV : ovulation

- **Le recrutement** correspond à l'entrée en croissance terminale d'une cohorte de follicules gonado-dépendants dont le diamètre est de 3 à 6 mm [91, 119]. Un follicule gonado-dépendant est un follicule qui a dépassé le stade auquel habituellement la plupart des follicules deviennent atrétiques [114]. Le recrutement n'est pas un phénomène isolé ou lié au hasard [98] quoique le facteur qui le déclenche ne soit pas encore défini [119]. Cette entrée en croissance est principalement imputable à la FSH [120]. La FSH agit sur ces follicules en augmentant leur aptitude à aromatiser les androgènes en œstrogènes. Le recrutement d'un nombre de follicules supérieur à celui nécessaire constitue la garantie qu'au moins un follicule se trouve dans les conditions optimales de développement et de sensibilité à l'action de concentrations minimales de FSH [114].
- **La sélection** est l'émergence du (ou des) follicule ovulatoire parmi les follicules recrutés [91]. En effet, après 2 à 4 jours de recrutement, plusieurs follicules de taille moyenne (6 à 9mm) peuvent être détectés par échographie [106]. Cette sélection est secondaire à la réduction de la FSH qui a initié le

recrutement et est étroitement lié au climat hormonal. La LH induit la production d'androgènes (androsténédione et testostérone) par les cellules de la thèque interne [98] à partir du cholestérol apporté par les lipoprotéines sanguines. La FSH induit l'aromatation de ces androgènes en œstrogènes (principalement du 17β -œstradiol) au niveau des cellules de la granulosa. L'œstradiol produit en synergie avec la FSH, se fixe sur ses récepteurs assurant la multiplication des cellules de la granulosa et contribuant à la formation du liquide folliculaire et l'augmentation de la taille de la cavité antrale. Chez la vache, espèce mono-ovulante, on observe pendant la phase de sélection une divergence dans la croissance des deux plus grands follicules : ce moment correspond à la déviation. Généralement la déviation survient entre 60 et 62 heures après le recrutement, au moment où le plus grand follicule a atteint le diamètre de 8.5 mm [121, 122]. La sélection est liée à l'expression des récepteurs à LH [123]. C'est donc le follicule comportant des récepteurs à LH qui deviendra dominant car il est capable de répondre aux gonadotrophines [124].

- **La dominance** fait suite à la sélection. Elle est morphologique et fonctionnelle [125]. Elle est qualifiée de morphologique parce qu'elle est exercée par le plus gros follicule présent sur l'un ou l'autre ovaire. Elle est également fonctionnelle parce que le follicule dominant est le seul qui est capable de provoquer la régression des follicules en croissance, ou d'inhiber la croissance d'autres follicules [126, 104] et d'ovuler dans un environnement hormonal approprié [127]. Il est reconnu que la dominance morphologique est plus longue que la dominance fonctionnelle, cette dernière pouvant s'exercer surtout au cours de la phase de croissance du follicule dominant et pendant les 2 premiers jours suivants [128]. Au cours de la phase de sélection, le follicule dominant croît de manière linéaire pendant plusieurs jours jusqu'à atteindre la taille de 9mm environ [30, 100, 129-131].

c/ Devenir du follicule dominant : Atrésie et ovulation

Plus de quatre-vingt dix-neuf pourcent des follicules subissent une atrésie. L'avancement dans le cycle œstral (première, deuxième ou troisième vague folliculaire), l'environnement hormonal et plus précisément la concentration en progestérone dans laquelle évoluent les follicules déterminent l'avenir du follicule dominant.

La sécrétion pulsatile de LH est régulée par les hormones stéroïdiennes et notamment la progestérone : de fortes concentrations de progestérone en cours de croissance folliculaire ont une action dépréciatrice sur la sécrétion pulsatile de LH [122]. Ainsi en contexte de progestéronémie basse, la sécrétion pulsatile de LH est plus importante : la croissance et la dominance du follicule dominant s'exercent plus longtemps [113]. C'est ce qui se produit au moment de la lutéolyse, la baisse de progestéronémie provoque une hausse de sécrétion pulsatile de LH culminant avec un pic de sécrétion préovulatoire.

Dès le moment de la déviation, la concentration en œstrogènes folliculaires baisse sensiblement dans tous les follicules, le follicule dominant compris. On parle de perte de dominance. Toutefois si la lutéolyse –lyse du corps jaune- avait eu lieu, les signes de vitalité du follicule dominant réapparaissent et l'ovulation a lieu [132].

1.7.1.3. Régulation endocrinienne de l'activité ovarienne

La régulation hormonale fait entrer en jeu diverses molécules :

- d'origine hypothalamique (GnRH)
- d'origine hypophysaire (LH et FSH)
- d'origine folliculaire : protéines, peptides (activine, inhibine, follistatine, IGF) et hormones stéroïdiennes (17 β -oestradiol et progestérone)
- d'origine périphérique : hormones et protéines (IGF, insuline, hormone somatotrope ou Growth Hormone (GH)).

▪ **Gonadotropine Releasing Hormone -GnRH-**

La GnRH, ou gonadolibérine, est une neuro-hormone peptidique de 10 acides aminés, d'un poids moléculaire de 1.18 kDA [133], sécrétée en continu et de manière pulsatile par l'hypothalamus. Elle agit sur la sécrétion alternée des hormones hypophysaires par les cellules gonadotropes [93]. Il est utile de rappeler qu'un pulse est un bref épisode de libération d'une hormone dans le sang, caractérisé par une montée rapide des concentrations sanguines suivie d'une diminution exponentielle conditionnée par la demi-vie de l'hormone [134].

▪ **Follicle Stimulating Hormone -FSH-**

Les gonadotropines jouent un rôle crucial dans la régulation de la fonction de reproduction tant chez le mâle que chez la femelle. Elles sont considérées comme

étant un intermédiaire essentiel entre le système nerveux central et les gonades [135].

Secrétée par le lobe antérieur de l'hypophyse, la FSH est une glycoprotéine dont la sécrétion est sous la dépendance de la GnRH. L'existence d'un facteur hypothalamique (FSHRH) responsable d'une libération préférentielle de FSH est loin de faire l'unanimité.

La FSH stimule, durant la phase terminale de la croissance folliculaire, l'expression de son propre récepteur, induit l'expression du récepteur de LH, des enzymes de la stéroïdogénèse sous la médiation de l'AMPc (Adénosine monophosphate cyclique) et l'activation de la protéine kinase A [93]. On lui attribue également l'aromatation des androgènes en œstrogènes à la suite de l'activation de l'aromatase des cellules de la granulosa [136]. Ces sécrétions sont régulées par la synthèse d'œstradiol et d'inhibine par le follicule [137].

- **Luteinizing Hormone -LH-**

La LH stimule la production d'œstradiol et d'IGF. Ainsi, à la déviation, un léger pic de LH entraîne une augmentation de concentrations de ces deux composés. Après la déviation, la LH contribue à la maturation finale et au bon fonctionnement des follicules de plus grand diamètre. Le pic de LH qui en résulte provoque l'ovulation et la formation par la suite d'un corps jaune. La concentration en FSH est basse et les follicules subordonnés, moins pourvus en récepteurs à LH, ne seraient pas capables de poursuivre leur croissance et s'atrophient [122, 138].

Le tableau suivant résume les actions principales des hormones hypothalamo-hypophysaires.

Tableau 1.1 : Rôle des hormones hypothalamo-hypophysaires [138]

HORMONE	ROLE DE L'HORMONE
GnRH	<ul style="list-style-type: none"> - Hormone hypothalamique. - Responsable de la synthèse et de la libération de 02 hormones hypophysaires : LH et FSH.
FSH	<ul style="list-style-type: none"> -Hormone hypophysaire. -Contrôle du développement de l'ovaire et de la croissance du follicule ovarien. -Stimulation de la synthèse des oestrogènes par les follicules.
LH	<ul style="list-style-type: none"> -Contrôle la maturation finale des follicules en collaboration avec la FSH. -Induction de l'ovulation. -Provoque la formation du corps jaune et la synthèse de progestérone.

▪ **Hormones ovariennes**

Essentiellement représentées, chez la femelle, par les œstrogènes et la progestérone

- ✓ Oestrogènes (principalement 17 β -oestradiol)

Ils sont synthétisés à partir des androgènes (androstènedione secrété par les cellules de la thèque interne) par l'intermédiaire de l'aromatase (cytochrome P450 CYP19) dans les cellules de la granulosa. L'activité de l'aromatase est sous dépendance de la FSH [139].

L'œstradiol a un effet trophique sur l'ovocyte et les cellules folliculaires. En effet, au début de la croissance folliculaire, les taux faibles d'œstrogènes circulants exercent un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire [139]. A l'inverse, en

fin de croissance folliculaire, les taux élevés tendent à promouvoir (feedback positif) la production de GnRH par l'hypothalamus, et donc la sécrétion de gonadotropines [91].

✓ Progestérone

Principale hormone sécrétée par le corps jaune et le placenta, la progestérone est le produit final d'une série de réactions biochimiques dont le précurseur est le cholestérol sanguin, qui pénètre les cellules lutéales via les récepteurs des lipoprotéines présents à la surface de ces dernières et est transformé, dans un premier temps, en prégnénolone dans les mitochondries puis en progestérone après action de la 3 β HSD (3 β *Hydroxy Stéroïde Déshydrogénase*) [91] .

Divers rôles sont attribués à la progestérone, elle permet l'établissement et le maintien de la gestation, l'inhibition de la prolifération cellulaire induite par les œstrogènes dans l'endomètre lors de la décidualisation, la régulation hydrique de l'unité fœto-maternelle et le blocage de la contractilité du myomètre permettant ainsi l'atonie utérine favorisant ainsi l'établissement de la gestation [93].

▪ **Peptides ou protéines**

✓ Action inhibitrice sur la croissance folliculaire

*Inhibine

L'inhibine est une glycoprotéine de 32 kDa, synthétisée par les cellules de la granulosa du follicule en cours de croissance. Elle est identifiée comme étant, avant la déviation, la principale responsable de la baisse du taux de FSH [122] par une action inhibitrice sur sa synthèse hypophysaire [140].

*GCIF (Granulosa Cell Inhibitory Factor)

Composé ovarien nouvellement identifié, de poids moléculaire inférieur à 5 kDa, il se pourrait que ce peptide soit un des inhibiteurs spécifiques de la croissance folliculaire des petits et moyens follicules. Il est produit par les cellules de la granulosa du follicule dominant et serait donc responsable de l'atrésie des follicules subordonnés [141].

✓ Action stimulante sur la croissance folliculaire

*Follistatine

La follistatine est une protéine de liaison de l'activine, un autre peptide ovarien exerçant par une action paracrine et autocrine des effets inverses de l'inhibine.

*Insuline et IGFs

Les IGFs, produits par l'ovaire lui-même, combinent actions endo, para et autocrines sur l'ovaire et le taux d'ovulation [142] en stimulant la croissance et la différenciation folliculaire [132] et en optimisant l'action de FSH et LH [122]. Elles s'opposent par leurs effets à l'atrésie des follicules.

*Somatotropine ou Growth Hormone (GH)

Ce peptide hypophysaire a une action directe sur le corps jaune et le follicule, et indirecte via l'IGF-1. Ses effets sur la folliculogénèse, initialement indépendamment puis sous dépendance gonadotrope, consistent à favoriser la prolifération cellulaire et à inhiber l'atrésie des follicules. De plus, il agit indirectement sur la qualité de l'ovocyte en accélérant et en coordonnant sa maturation nucléaire et cytoplasmique. Il augmente la production d'hormones stéroïdiennes et facilite l'ovulation [143].

1.7.2 Etiopathogénie

La cause exacte du développement du KO est encore malconnue [144] mais l'étiologie la plus fréquente et la plus commune est probablement l'absence de réponse hypothalamique à l'œstradiol [11]. Cette altération se trouve reliée à un dysfonctionnement de la paroi folliculaire mais aussi à différents facteurs qui sont soit propres à l'animal soit à son environnement et ils seraient susceptibles d'agir au niveau du complexe hypothalamo-hypophysaire et/ou de l'ovaire.

1.7.2.1 Dysfonctionnement hypothalamo-hypophysaire

L'hypothèse la plus admise expliquant la formation du kyste est que la libération de la LH par l'axe hypothalamo-hypophysaire est altérée [5] : la décharge de LH est soit absente soit insuffisante [4, 39] ou bien ne se produit pas au moment opportun de la maturation folliculaire [34, 66]. Cette altération ne semble pas due à une réduction de la concentration de GnRH dans l'hypothalamus ou bien du nombre de ses récepteurs ni de la réduction de la concentration de la LH dans l'hypophyse [15]. Une altération du mécanisme de feed-back positif des œstrogènes (assurant la libération de la GnRH, hormone responsable du pic préovulatoire de la LH) sur l'axe hypothalamo-hypophysaire inhibe l'afflux de LH préovulatoire, même lorsque le follicule dominant sécrète des concentrations élevées d'œstradiol [145-147]. Cependant, ce caractère réfractaire vis-à-vis des œstrogènes semble être une conséquence plutôt qu'une cause de cette pathologie. La section de l'ovaire kystique restaure le feed-back ainsi que la capacité de l'œstradiol à induire une

décharge de LH, bien que le mécanisme fondamental ne soit pas connu [148]. L'altération du mécanisme de rétrocontrôle peut être attribué à des facteurs agissant au niveau hypothalamo-hypophysaire.

La présence d'une concentration suprabasale de P4 [4] bloque la décharge de LH, inhibe l'ovulation mais augmente la fréquence des pulses de LH, responsable d'une croissance excessive et de la persistance du follicule anovulatoire et une augmentation de la concentration périphérique des œstrogènes [149, 150] (Figure 1.3). De plus, Hatler et al. [71] ont proposé une hypothèse expliquant l'étiologie des kystes en rapportant qu'une concentration intermédiaire de progestérone dans la circulation peut causer l'insensibilité hypothalamique à l'estradiol et induire un défaut de libération de GnRH. En outre, le phénomène de "Turnover" des kystes se produit parce que les follicules normaux mûrissent et atteignent le stade préovulatoire en présence des kystes qui sécrètent en petites quantités de la progestérone. Il est possible que les kystes contribuent à leur remplacement par ce mécanisme [16]. Une autre hypothèse proposée par Beam [151] qui a suggéré que la stéroïdogénèse est élevée durant le développement précoce du futur KO, ce qui peut perturber l'axe HHG. L'hyperactivation du rétrocontrôle induit une forte libération de LH et la décharge finale de cette dernière se produit trop tôt avant la maturité du follicule qui ne pourrait plus répondre au moment de l'ovulation et devient kystique. Selon Hampton et al. [151], l'hypersecretion de LH ne semble pas être impliquée dans la formation du KO mais elle joue un rôle dans la persistance de celui-ci.

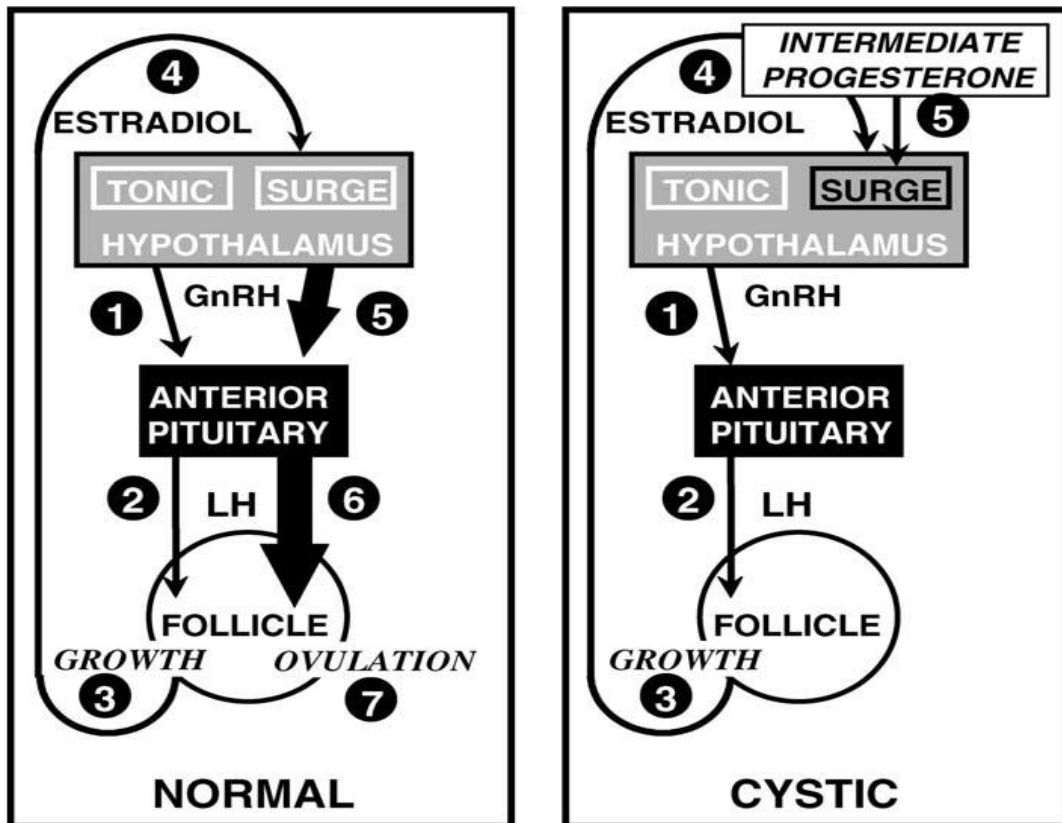


Figure 1.3 : Modèle montrant l'effet d'une concentration intermédiaire de P4 dans la formation du KO [16]

1.7.2.2 Dysfonctionnement ovarien/folliculaire

Les études relatives aux récepteurs LH et FSH des cellules granuleuses font état d'une diminution [153] ou non [36, 57] de leur nombre par rapport aux follicules ovariens normaux. De même, de nombreux travaux concernant les récepteurs des oestrogènes, ER- α (détecté dans les cellules de la thèque et dans d'autres types de cellules) et ER- β (détecté dans la granulosa) ont été effectués ; Chez les rongeurs, l'importance du récepteur de l'œstradiol β (ER- β) dans la croissance folliculaire et le développement a été clairement démontrée et sa localisation dans les cellules folliculeuses a été décrite chez plusieurs mammifères, y compris la vache [154]. L'expression de l'ARNm de l'ER- β précède l'augmentation de l'expression des gènes codant pour le récepteur de LH et pour les enzymes spécifiques stéroïdiennes [155]. De ce fait, une altération de l'expression de l'ER- β peut être impliquée dans le développement du KO. Cependant, cette hypothèse n'est pas soutenue par les résultats de Calder et al. [57] qui ont montré que l'expression de ce récepteur n'était pas altérée au cours du développement des kystes jeunes, bien

que Odore et al. [36] ont trouvé une diminution des concentrations des récepteurs oestrogéniques sans identification du type (ER α ou ER β). Plus tard, Salvetti et al. [156] et Alfaro et al. [157] ont noté une diminution de l'expression de l'ER- β et une forte expression de l'ER- α , du récepteur des androgènes et de l'isoforme β (récepteur de P4) dans la granulosa chez des vaches atteintes de KO tandis que Yousefdoost et al. [158] ont rapporté que les récepteurs oestrogéniques α sont diminués dans l'hypothalamus, ce qui le rend incapable de répondre aux oestrogènes.

Dans une autre étude, L'expression de l'ARNm du récepteur de LH et de 3 β -HSD, enzyme de conversion pregnenolone \rightarrow P4, est élevée [57], tandis que celle de P450 Side Chain Cleavage, enzyme de conversion cholestérol \rightarrow pregnenolone, est diminuée dans la granulosa du kyste folliculaire par rapport à celle du follicule dominant [147] quoique Grado-Ahuir et al. [159] n'aient pas noté de différences.

L'implication des protéines de la matrice extracellulaire (MMPs) dans la formation du KO a été faite par Imai et al. [160] : MMPs comme les collagénases (MMP-1, 8, 13) ou gélatinases (MMPs-2, 9) et leurs inhibiteurs jouent le rôle de remodelage de la paroi folliculaire et sa rupture au moment de l'ovulation [161]. La forme inactive proMMP doit être transformée en forme active MMP (cette activation est déclenchée par la décharge de LH). Et puisque une décharge aberrante de LH cause la formation du kyste, l'augmentation des niveaux de ces métalloprotéinases est un indicateur de l'absence d'un pic de LH et non pas une cause de cette pathologie [162]. L'abondance de proMMP-9 peut probablement dénoncer un kyste folliculaire [160].

Ces résultats montrent que le processus de la stéroïdogénèse est altéré dans le cas de KO, en association avec le désordre du système de rétrocontrôle entre l'ovaire et l'hypothalamus [147].

A part le changement de l'expression de certains récepteurs, la prolifération cellulaire et l'apoptose des cellules de la granulosa et de la thèque interne semblent être modifiées durant cette affection [163]. En effet, les kystes jeunes témoignent d'une augmentation de l'apoptose et une diminution de la prolifération cellulaire en comparaison à un kyste mûr [164, 165]. Dans les cellules thécales, la production du facteur vWF, qui indique la destruction des cellules endothéliales des vaisseaux

sanguins régressés, est diminuée dans les KO par rapport aux follicules atrétiques [147].

Dans l'ovaire, les principaux facteurs de l'apoptose sont : le système FAS et les membres de la famille BCL2. Le récepteur FAS est un membre de la famille TNF qui est activé en se liant à son ligand (FASLG), menant à la formation du complexe (DISC) qui induit la mort cellulaire. Agissant dans les mitochondries, les protéines de la famille BCL2 peuvent être classifiées en ceux qui sont anti-apoptotiques (BCL2, BclxL, BCL2L2) en bloquant l'activation des caspases (caspase 3, 6 et 7) qui traduisent les signaux de l'apoptose, et ceux qui sont pro-apoptotiques (BAX, BAD, BIM, BclxS, BOK). Caspase 3 est activée durant l'atrésie folliculaire. Dans le cas de KO chez la vache, FASLG, caspase 3, Bax sont notés en petites quantités tandis que le facteur anti-apoptotique BCL2 est fortement exprimé dans les couches cellulaires du follicule kystique en comparaison avec celles du follicule atrétique [166, 167]. La seule similitude démontrée entre ces 02 types de follicule est la diminution de l'indexe de prolifération cellulaire confirmée par la baisse de l'expression des Cyclines D1 et E (protéines induisant la progression et la prolifération des cellules) par rapport à un follicule préovulatoire normal [167]. L'effet anti-apoptotique des facteurs de croissance semble être corrélé avec leur capacité de stimuler la prolifération des cellules. IGF-I, bFGF et EGF ont diminué le FASLG qui induit l'apoptose des cellules granuleuses cultivées et ont augmenté simultanément la prolifération de cellules [167]. Les kystes folliculaires ont des quantités plus élevées d'IGF2, un facteur de croissance qui agit contre la mort cellulaire [168, 167]. D'après ces résultats, la notion de la 'persistance du kyste ovarien' est un composant important dans la pathogénie du KO [167].

Récemment, L'implication du système β adrénergique dans l'étiopathogénie du KO a été proposée dans différentes études [169, 170]. Ces dernières années, les expérimentations ont confirmé le rôle de l'innervation sympathique (innervant les cellules thécales et la glande interstitielle) [169] dans le contrôle de certains aspects de la fonction ovarienne comme le développement folliculaire, la production de stéroïdes et la contractilité de la paroi folliculaire [171, 170]. Dans le cas de KO, l'activité du nerf sympathétique est augmentée chez différentes espèces notamment l'Homme, les rongeurs, la truie et la vache [172]. L'administration du Carazolol (qui bloque les récepteurs β -adrénergiques) inhibe les effets négatifs

d'une hyperactivité β -sympathétique, ce qui favorise la contractilité de la paroi folliculaire et par la suite, l'expulsion de l'ovocyte et la lutéinisation [170].

1.7.2.3 Facteurs liés à l'animal

a/La production laitière

Les KO sont associés avec une augmentation de la production laitière [173, 174]. Des rapports démontrent que l'incidence de cette affection triplait lorsque la production laitière doublait (incidence de 9% et de 27% pour les lactations produisant 6000 et 12000kg de lait, respectivement) [175], de même qu'elle augmenterait de 1.5% par 500 kg d'augmentation de la production laitière [176]. Inversement, de nombreux investigateurs n'ont pas trouvé une association du KO avec le niveau de la production laitière [177].

Selon l'idée " la cause doit être présente avant d'observer l'effet", il serait intéressant de savoir si l'augmentation de la production laitière est-elle une cause ou une conséquence de cette pathologie ? [8], sachant que les travaux d'Erb [178] ont démontré que la production laitière ne causait pas le KO.

Une balance énergétique négative au moment du PP, chez les fortes productrices s'accompagne de différents changements métaboliques et hormonaux qui affectent la fonction de reproduction [179, 180] au niveau de l'axe HH et au niveau de l'ovaire/follicule [181]. Durant une BEN, les concentrations plasmatiques périphériques de l'IGF-I, de l'insuline, de glucose [179] et de la leptine [182] sont réduites, alors que les concentrations de certains métabolites comme les acides gras non estérifiés (AGNE), le β -hydroxybutyrate (β HB) [80, 183, 184], et les peptides opioïdes endogènes [185] sont élevées.

L'IGF-I [186] et l'insuline [17] sont des stimulateurs importants de la fonction de reproduction [187] dont la croissance folliculaire [188] et la stéroïdogénèse [189, 158], en parallèle avec la présence de leurs récepteurs dans les cellules de la granulosa et de la thèque [190]. Une dose de 100 ng/ml de ces 02 hormones est suffisante pour la production de stéroïdes par les cellules thécales [191]. L'activité de l'IGF-I a été présentée chez plusieurs espèces de mammifères et la diminution de son expression dans le follicule atreétique et dans le KO a été démontrée [189], plus particulièrement, une semaine avant la formation de ce dernier [6]. En effet,

une diminution de la concentration de l'une ou des 02 hormones au moment du post-partum peut contribuer à la formation du KO [192]. Ce qui a été supporté aussi par les travaux de Braw-Tal et al. [85] (tableau 1.2). En contre partie, Probo et al. [80] ont noté des niveaux plasmatiques élevés de l'IGF-I chez des vaches kystiques responsables de la maintenance du KO.

Tableau 1.2. Profil hormonal du liquid folliculaire aspiré à partir des follicules préovulatoire et subordonné et des KO [85].

	Glucose (mg/l)	P4 (ng/ml)	E2 (ng/ml)	IGF-I (ng/ml)	IGFBPs (%bound)	Insuline (pg/ml)
F.préovulatoire	0.74 ±0.03	54 ± 5	2034 ±32	146 ±42	1.4 ± 0.2	205.2 ± 22.5
F.subordonné	0.55 ±0.05	390 ± 93	94 ± 28	125 ±32	18.6 ± 2.3	20.1 ± 8.9b
KO	0.36 ±0.02	212 ± 31	170 ±37	61 ± 6	14.0 ± 1.1	2.8 ± 1.4

La leptine est une nouvelle hormone produite majoritairement par les adipocytes [193] et à des degrés moindres par d'autres tissus comme le cerveau, le muscle, le placenta, l'épithélium gastrique et mammaire [194]. Elle agit sur des récepteurs spécifiques présents dans l'organisme [195]. Outre son rôle dans la satiété, l'équilibre énergétique et la thermorégulation, elle tient une place centrale dans le développement et la régulation de la reproduction. Dans l'hypothalamus, elle règle la sécrétion pulsatile de la LHRH et dans l'hypophyse, elle module la sécrétion des gonadotrophines. Elle agirait aussi directement sur les gonades. Chez les femelles, elle contribue largement au contrôle de l'ovulation, informant l'axe hypothalamo-hypophysaire des réserves énergétiques qui sont une condition limitante pour mener à bien la fécondation, la gestation et la lactation [196]. Liefers et al. [197] ont noté le manque d'un net rapport entre les profils de la leptine et la première ovulation qui suit le part, bien qu'un niveau minimum de cette hormone semble être impliqué pour induire la première décharge de LH au cours du postpartum, et par conséquent, elle peut jouer un rôle dans le développement du KO.

Les AGNE et le β HB sont les principaux métabolites reflétant les profils énergétiques des vaches. Les AGNE indiquent le degré de mobilisation graisseuse et peuvent être les indicateurs les plus sensibles d'une BEN durant le post-partum

et le premier mois de lactation. En fait, l'installation d'une cétose clinique ou sub-clinique, par oxydation des AGNE en corps cétoniques, y compris le β HB lors d'une BEN [198], augmente le risque de formation des KO [199]. De plus, les AGNE sont cytotoxiques pour différentes cellules notamment les cellules bovines granuleuses et thécales [200, 198] et empêchent la sécrétion de l'insuline par les cellules β pancréatiques particulièrement chez les rongeurs [201].

Le KO est principalement observé chez les vaches hautes productrices du lait durant les premiers mois du postpartum qui sont générateurs du stress [202, 169]. Les peptides opioïdes endogènes (EOP : Endogenous Opioid Peptides) sont impliqués en réponse à ces états de stress [203], comme ils ont un rôle régulateur de plusieurs systèmes endocriniens y compris l'axe-hypothalamo-hypophyso-adrénocortical, qui a des implications directes sur la modulation des hormones sécrétées par l'hypophyse antérieure [204]. Dérivés de la pro-opio-melanocortine (beta-endorphine), de la pro-encephaline et de la prodynorphine, ces peptides agissent plus ou moins spécifiquement sur des récepteurs identifiés au niveau du noyau arqué et de l'éminence médiane chez le porc, la chèvre et la vache [205]. Ces opioïdes et leurs agonistes telle la morphine bloquent l'action des E2 et inhibent la sécrétion de GnRH et de la LH, en relation avec l'augmentation des endorphines et de récepteurs libres qui forment des complexes bloquant les canaux de calcium et induisant un déficit intracellulaire du calcium. L'administration de naloxone, un inhibiteur des opioïdes, stimule la production et la libération de LH en augmentant le taux de calcium intracellulaire [185]. De ce fait, Le traitement du KO à l'aide du Ca-Naloxone a été proposé dans plusieurs études [206, 204].

Selon ces données, il serait extrêmement intéressant de préciser les interactions entre la BEN, le niveau de la production laitière et le risque d'apparition d'un KO, étant donné que les résultats qui en concernent, sont à ce jour conflictuels [8].

b/ Le niveau de la lactation et le rang du vêlage

L'incidence du KO augmente avec le rang du vêlage [207], en particulier après la 1^{ère} lactation [173]. D'autres études indiquent que la fréquence chez les primipares est de 40% à 80% de la population générale [208].

c/ La génétique

Il existe une prédisposition génétique évidente vis-à-vis du KO [176]. L'héritabilité est de 0.15 et 0.11 dans la 1^{ère} et la 2^{ème} lactation, respectivement [209] et selon Van Dorp et al. [210], elle est de 0.02. En Suède, l'incidence a été réduite de 11% en 1954 à 5% en 1961 grâce à la sélection génétique [211]. La race Holstein-Frisian est plus prédisposée [212] que les autres races notamment la Jersey, la Guernsey et l'Ayrshire [213].

Quoique le kyste soit associé avec une production élevée, il n'est pas lié directement au gène de la production laitière et certains facteurs en influencent par le fait que la fréquence du KO est apparue significativement plus élevée avec certains taureaux [214]. Dans 3 ans d'étude, Wiltbank et al. [215] ont démontré après croisement des vaches avec certains taureaux que les femelles descendantes avaient des pourcentages de KO variant de 0 à 23%. De ce fait, les mâles reproducteurs doivent être sélectionnés en se basant sur les critères ; rendement du lait élevé et incidence du KO faible [214]. L'identification du gène(s) qui favorise le développement du KO rendrait possible d'examiner et de sélectionner génétiquement les taureaux et les vaches avant leur utilisation dans les programmes d'insémination artificielle et les autres biotechnologies de reproduction [13].

d/ Les pathologies puerpérales

Les vaches atteintes d'affection durant la période du PP, telles que la rétention placentaire, la métrite et la boiterie sont 1.4 à 2.9 fois plus susceptibles de développer le KO que les vaches n'en étant pas atteintes pendant cette période [173].

Bosu et Peter. [216] ont pu isoler dans des uteri de vaches atteintes de KO le germe pathogène majeur, qui était E. coli.

En cas d'infection utérine, le cortisol et les endotoxines (*Arcanobacterium pyogenes*, E. coli) libérés en grande quantité peuvent agir synergiquement et causer le KO [216, 217, 198].

La perfusion intra-utérine de l'endotoxine E. coli augmente le taux de cortisol et supprime l'afflux de LH [218].

L'hormone adrénocorticotrope (ACTH) joue également un rôle dans la pathogénèse du KO [219, 220]. Le traitement à l'ACTH retarde la baisse normale du taux de P4 circulante durant le dernier tiers du cycle œstral (en entravant la lutéolyse ou en causant la sécrétion surrénalienne de P4) et supprime l'afflux de LH préovulatoire [221]. De plus, le traitement par l'œstradiol ne parvient pas à produire un afflux de LH chez les vaches avec des KO induits par l'ACTH [76]. Par conséquent, l'ACTH et le cortisol peuvent avoir un effet direct sur l'hypothalamus et /ou un effet indirect en entraînant des taux anormaux de P4 circulante [222].

Des mécanismes semblables peuvent intervenir lorsque le KO est associé avec une boiterie. Dans certains cas de boiterie, l'acidose subaiguë du rumen entraîne la production d'endotoxines et de cortisol. De même, l'hyperalgésie causée par la boiterie entraîne la libération massive de catécholamines, de glucocorticoïdes et de P4 par les surrénales ce qui en résulte un retard voire une inhibition de la libération normale de LH [223]. Enfin, des vaches présentant des boiteries passent moins de temps à s'alimenter, ce qui permet l'installation d'une BEN plus prononcée et plus prolongée qui induit l'apparition du KO par réduction de libération de LH et de l'IGF-I [223].

e/ la gémellité

Selon certains auteurs, les gestations gémellaires prédisposent les vaches aux KO [225, 3]. Clapp [226] a rapporté que les vaches avec des KO ont de fort pourcentage de gestation gémellaire que les vaches normales (9/24 VS 21/126). Plus tard, Silva-del-Rio [227] a obtenu ce même résultat. De plus, une étude réalisée par des Suédois a démontré que les vaches qui avaient des gestations gémellaires étaient 2.0 à 2.7 fois plus prédisposées à avoir des KO que des vaches ayant une seule portée [207, 228].

1.7.2.4 Facteurs liés à l'environnement

a/La nutrition

Selon López-Gatius et al. [173], l'augmentation d'une unité du score corporel (échelle de 1 à 5) au 60^{ème} j avant le vêlage augmente le risque d'apparition d'un kyste au cours du PP à cause d'une mobilisation importante des réserves graisseuses [229]. Les vaches sous-alimentées durant le prépartum sont aussi prédisposées au KO. La distribution de fourrages ayant une teneur plus élevée en phytoestrogènes peut augmenter la fréquence des kystes [230, 231].

Plus spécifiquement, Une carence en β -carotène, précurseur de la vitamine A, induit un retard d'ovulation et provoque l'apparition des kystes ovariens [232, 233]. Une supplémentation en sélénium réduit l'incidence des kystes [234]. Dans une étude récente, les vaches qui ont consommé plus de cuivre, ont eu plus de cholestérol dans le plasma. Le cholestérol est un précurseur de progestérone, qui est convertie en stéroïde. Par conséquent, les vaches kystiques auraient plus de cuivre que des vaches normales. De plus, l'effet du cuivre sur l'acide linoléique conjugué (ALG) et sur les acides gras insaturés (IGIs) résultant d'une production laitière accrue est bien reconnu. Une diminution en cuivre diététique augmente la production laitière [158].

La contamination de l'aliment par *Fusarium* spp. qui contient une grande quantité de mycooestrogène 'Zearalenone' prédispose à l'apparition de cette pathologie [235]. Ce dernier et grâce à sa structure, possède les mêmes caractéristiques des stéroïdes et peut se lier aux O2 récepteurs d'E2 qui garantissent son activité oestrogénique à l'origine des désordres de reproduction notamment chez le porc [236].

b/ La saison

L'effet des saisons sur l'incidence des kystes n'est pas clair. Certains auteurs n'ont pas pu démontrer un effet quelconque [176], alors que d'autres décrivent une incidence accrue au cours de l'automne- l'hiver [208], l'hiver qui est associé avec le manque d'exercice, de minéraux et de vitamines (plus particulièrement sélénium et vit E) [237, 235] ou l'été [173]. Ces derniers ont trouvé que les vaches vêlant aux mois d'été sont 2.6 fois plus prédisposées aux kystes que celles qui mettent-bas aux mois d'hiver [173] et les fréquences des KO durant les mois de mai à septembre et d'octobre à avril sont respectivement 12.3% et 2% [238].

1.7.2.5 Caractéristiques du liquide kystique

Mieux comprendre l'étiopathogénie du kyste ovarien implique de prendre en considération les caractéristiques du liquide kystique. En fait, le liquide folliculaire est un fluide complexe, de couleur jaune, semi-visqueux, favorable à la croissance et à la différenciation des cellules folliculeuses ainsi qu'à la maturation nucléaire et cytoplasmique des ovocytes. Ses constituants proviennent en majorité du plasma sanguin mais il est composé aussi de facteurs produits localement par les cellules granuleuses et thécales [239, 240]. En général, il contient des électrolytes, de l'O₂, des hormones, des substrats énergétiques et des métabolites [241].

Dans le cas d'un kyste ovarien, ce liquide devient plus foncé, visqueux [17] et se caractérise par l'augmentation du taux de certains composants qui peuvent refléter le degré de maturation des KO mais aussi indiquer les moyens par lesquels ces derniers persistent. Ces composants sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1.3 : Composants en excès dans le liquide kystique et leurs rôles cités par différents auteurs

Composant	Rôle	Auteur
MMP-9 et MMP-2	Remodelage de la paroi folliculaire	[160,170]
HSP70	Diminue l'apoptose dans la thèque interne et retarde la régression des KO	[242, 243]
BMFA	Composé de l'ATP synthase, enzyme importante au métabolisme énergétique	[242]
SD	Enzyme intervenant dans le cycle de l'acide tricarboxylique et la phosphorylation oxydative.	[242]

MeS	Enzyme assurant la production de méthionine & fait partie du cycle de biosynthèse et de régénération de la S-adénosylméthionine	[242]
EAF, GDP & BLG	Rôle n'est pas bien élucidé	[242]
Vimentine & cytokératine	Protéines du cytosquelette assurant l'intégrité et les contacts entre les cellules	[244]
Vitamine C	Stimule la production de P4 en cas de KL	[245]
VEGF	Facteur de perméabilité vasculaire, mitogène pour les cellules endothéliales	[246]
Nitric oxide	Vasodilatation, néoangiogénèse, régulation de la barrière hémato-folliculaire et inhibition de l'action de l'aromatase qui convertit P4 en E2	[247]
Cortisol et T3	Impliquent l'existence d'un état de stress ce qui empêche la libération des stéroïdes	[247]
Progestérone	Bloque la décharge de LH et garantit la persistance du KO	[247]

Enfin, une illustration de la pathogénie du KO est représentée dans la figure 1.4.

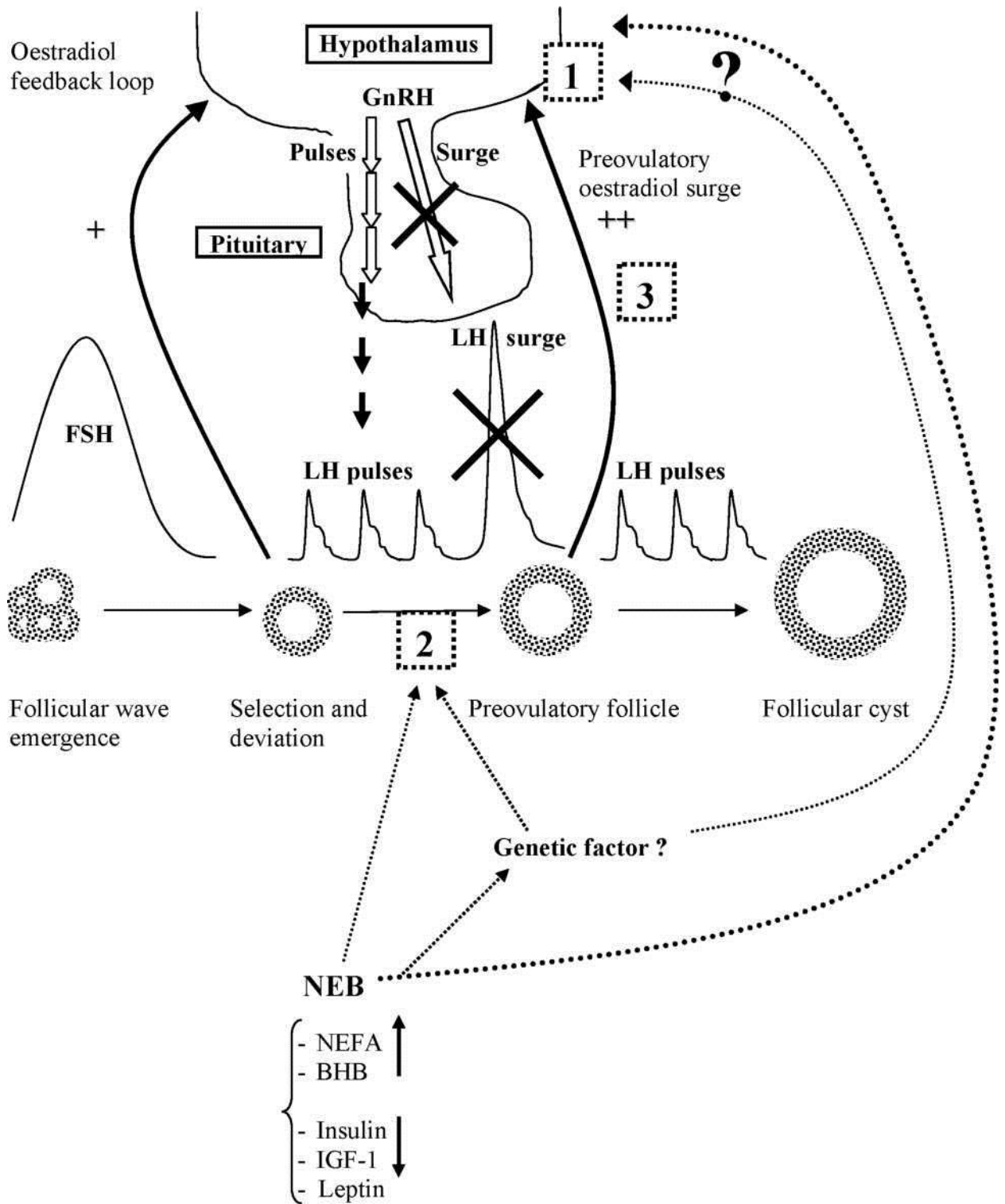


Figure 1.4 Représentation schématique de la pathogénie du KO avec ses différentes voies possibles [6]

1.8 Traitement

Des débats étaient entretenus pour discuter des avantages économiques du traitement du KO. Les chercheurs ont conclu que le traitement est plus avantageux que l'attente d'une guérison spontanée qui se produit juste au début du post-partum sachant que les KO qui ont des effets indésirables sur les performances de reproduction se produisent vers la fin de cette période [248].

1.8.1 Traitement non hormonal : Rupture manuelle et ponction du KO

Dès 1874, la rupture manuelle du kyste a été préconisée pour la 1^{ère} fois en Allemagne par Zschokke et le taux de guérison était approximativement de 45% [249].

Par la suite, les études ont montré que cette intervention peut entraîner des traumatismes et des hémorragies causant des adhérences et contribuant à une réduction de la fertilité [250, 11, 31] quoiqu'elle ait un coût très réduit [251].

Une autre méthode qui consiste à ponctionner le KO par voie transvaginale sous contrôle échographique [252, 253] ou alors à l'aveugle [254] a été connue aussi. Cette dernière a permis d'obtenir un 1^{er} œstrus et une gestation à 34 et 55j respectivement suivant la ponction [254]. En plus, elle s'avère moins coûteuse que la ponction échoguidée [254] et moins dangereuse que la rupture manuelle [255]. Une injection de GnRH simultanément à l'aspiration a également été proposée, suivie d'une PGF2 α 7 jours plus tard [256]. Un nouvel œstrus a été observé dans 100 % des cas sur 5 vaches traitées à l'aide de GnRH simultanément à la ponction du kyste ovarien [254]. Dans une étude associant GnRH à la ponction et PGF2 α 7 jours après, un taux de gestation total de 68.4% a été obtenu [256]. Le Tableau 1.4 reprend les résultats obtenus par les différentes études sur la ponction des kystes folliculaires.

Tableau 1.4 Comparaison des résultats obtenus lors de l'aspiration du contenu des kystes ovariens

Traitement	Nombre d'animaux	Diagnostic	Taux de retour en oestrus	Taux de gestation	Référence
<i>Aspiration+GnRH</i>	5 KF	Echographie	100%	-	[254]
<i>Aspiration</i>	18 KF		94.5%	66.6%	[256]
<i>Aspiration+GnRH/ PGF2α</i>	29 KF		100%	68.4%	[256]

1.8.2 Traitement hormonal

a/ hCG

Hormone protéique, à effet lutéotrope [257], induit la lutéinisation du KF ou des autres follicules présents [249], par conséquent, la PGF2 α endogène ou exogène provoque la lutéolyse et un nouveau cycle commence. Très coûteuse et antigénique, cette protéine peut engendrer un choc anaphylactique ou bien un état réfractaire des vaches vis-à-vis du traitement qui a été démontré chez les lapins [258].

Le % des vaches qui développent du tissu lutéal en répondant à l'hCG varie de 58% à 86%. Ces résultats sont obtenus en utilisant les différentes voies d'administration, de l'intraveineuse à l'intrakystique et les différentes combinaisons de ces voies [259].

b/ GnRH

Kittock et al. [260] furent les premiers à utiliser la GnRH pour traiter les kystes chez 5 vaches dont les chaleurs étaient observées dans 20 à 24j plus tard. La GnRH entraîne une augmentation immédiate de la sécrétion de la LH et de la lutéinisation du kyste. L'ovulation du kyste n'a pas lieu, mais d'autres follicules présents au

moment du traitement peuvent ovuler [35]. Après la lutéinisation, le taux élevé de la P4 rétablit la réponse de l'hypothalamus à l'effet de rétroaction positive de l'œstradiol et l'activité ovarienne cyclique normale se rétablit après la libération de la PGF2 α endogène et la régression du KO [261]. Le pourcentage des vaches qui reprennent leur cyclicité est compris entre 72% à 85%. L'intervalle entre le traitement et le 1^{er} œstrus est de 19 à 23j, et le taux de conception au 1^{er} œstrus varie de 46% à 58%. Les raisons pour lesquelles les 20% environ de vaches ne répondant pas au traitement demeurent inconnues, étant donné que la libération stimulée de LH est similaire chez ces vaches et chez celles qui ont répondu au traitement. Cependant, il n'y a pas d'augmentation subséquente du taux de P4 chez les vaches dont l'activité ovarienne ne s'est pas rétablie [261, 11].

Nessan et al. [262] ont réalisé une étude comparative entre l'hCG et la rupture manuelle-la GnRH et la rupture manuelle –la GnRH seule. Les 3 groupes avaient des taux de gestation compris entre 40-47% et ils ont conclu que l'hCG et la rupture manuelle ne sont pas nécessaires quand la GnRH est utilisée. Dans une autre étude comparative, la buséréline (un analogue de la GnRH plus puissant) a produit des effets similaires à ceux observés après le traitement à l'aide de GnRH. Récemment, Probo et al. [12] ont noté que sur les 133 vaches kystiques, 71% ont repris leur activité ovarienne après administration de 20 μ g de buséréline. La léciréline (un autre analogue) a aussi prouvé son efficacité à traiter les KO chez la vache [263], surtout si elle est administrée par voie épидurale [170].

Des doses de GnRH comprises entre 50 et 500 μ g entraînent un taux de gestation en 1^{ère} insémination compris entre 49% et 65%, un % de gestation total de 70% à 100% et un délai moyen pour l'obtention d'une gestation de 34 à 87j [88].

Vu qu'elle est moins antigénique et moins coûteuse que l'hCG, la GnRH constitue le traitement classique le plus efficace du KO chez les bovins [248, 264-266].

c/ PGF2 α et associations hormonales

La régression des KL qui résulte du traitement à l'aide de GnRH ou de l'hCG peut être induite 7 à 9j plus tard à l'aide de PGF2 α exogène, afin de raccourcir l'intervalle entre le traitement et l'œstrus et d'augmenter le degré de synchronisation

de l'œstrus [267]. La PGF2 α est également le traitement le plus efficace pour les KL [268].

Dans une étude réalisée par Leslie et Bosu [268], les vaches ayant des KO à faible concentration en P4 ne répondant pas au traitement à la PGF2 α seule et ont eu un fort % de renouvellement kystique par rapport à celles dont le taux de P4 était élevé. En plus, 75% des vaches étaient en œstrus dans les 7j suivant ce traitement et le taux de conception au 1^{er} œstrus était de 66%.

Quoique certains auteurs n'ont pas pu démontrer l'avantage de l'administration simultanée de GnRH et PGF2 α [269, 270], une étude récente a rapporté que le traitement simultané à l'aide de GnRH et de PGF2 α a permis le retour précoce de l'œstrus chez les vaches présentant des KL (50% des vaches étaient en œstrus avant un 2^{ème} traitement à l'aide de PGF2 α , 14j plus tard). Il a également augmenté le nombre de vaches dont les KF répondaient au 2^{ème} traitement à l'aide de PGF2 α comparativement à la GnRH administrée seule [271]. Ce schéma thérapeutique est bénéfique étant donné que la différenciation entre les KF et les KL est difficile.

Le protocole Ovsynch -conçu pour l'IA à temps fixe- a été utilisé avec succès dans les programmes de synchronisation des chaleurs et des ovulations [272, 273]. Il consiste en :

- une 1^{ère} injection de GnRH qui va stimuler la croissance folliculaire et induire l'ovulation du follicule dominant éventuellement présent et la formation subséquente d'un corps jaune.
- une injection 7j plus tard de la PGF2 α dans le but d'arrêter la synthèse de P4 présente et de permettre au follicule dominant éventuellement présent de poursuivre sa croissance et d'ovuler.
- une seconde injection de GnRH après 48h qui trouve sa raison d'être dans la nécessité d'obtenir une meilleure synchronisation de l'ovulation et par la nécessité de prévenir l'absence d'ovulation.
- une insémination systématique est effectuée 16 à 20h plus tard [223, 274].

Dans des expériences avec un grand troupeau laitier de Floride (3000 vaches en lactation), un taux similaire de gestation (environ 27%) a été signalé en utilisant ce protocole chez des vaches cyclées et chez des vaches kystiques [275]. Dans

une autre expérience qui consiste à comparer l'aspiration du kyste et le traitement hormonal, les vaches qui ont subi une ponction du kyste suivie d'un traitement à l'aide de GnRH et la PGF2 α ont présenté des meilleurs taux de guérison par rapport à celles qui ont subi la ponction ou le traitement hormonal uniquement [256].

d/ Progestagènes

Le traitement avec des implants intravaginaux (CIDR : Controlled Intravaginal Device Release ; PRID : Progesterone Releasing Intravaginal Device) pendant 9 à 12j réduit au cours des 6 [276] à 24h suivantes [29] la fréquence des pulses de LH. Par conséquent, la P4 réduit le risque de persistance du KO étant donné que la LH reste stockée au niveau hypophysaire et lors du retrait de l'implant, la GnRH stimule une décharge de LH qui induit par la suite l'ovulation [259]. La P4 rétablit la réponse de l'hypothalamus à l'effet de rétroaction positive de l'œstradiol et l'œstrus est suivi de l'ovulation dans les 7j suivant le retrait de l'implant [37, 277].

Des taux d'œstrus allant de 82% à 100% et des taux de conception au 1^{er} œstrus allant de 18% à 28% ont été signalés après traitement à la P4 [37, 33]. Selon Iwakuma et al. [278], le traitement du KO à l'aide de l'implant CIDR suivi par la PGF2 α lors de son retrait assure les bonnes performances de reproduction. Une autre étude a montré que l'addition de CIDR au protocole Ovsynch n'a pas eu d'effets sur la production de stéroïdes et le taux de conception [279]. En comparant les 03 traitements hormonaux (GnRH, hCG et PRID), Mollo et al. [248] ont trouvé les résultats adaptés dans le tableau 1.5 et ils ont conclu que la GnRH est le premier choix à faire pour traiter le KO, suivie par l'hCG. Le PRID est la dernière tentative après l'échec des autres traitements vu son coût et les désavantages de son application et son retrait.

Tableau 1.5 Résultats obtenus après traitements hormonaux des KO [248].

	GnRH	hCG	PRID
Taux de guérison (%)	64	66	63
Taux de conception (%)	45.2	47.8	46.2
Taux de conception (%)	20	22	20
Temps de guérison (j)	17-9	17.7	19.7

Enfin, les médicaments, les doses et les protocoles recommandés pour le traitement du KO sont décrits dans le tableau 1.6, adapté par Brito et Palmer [11].

Tableau 1.6 Médicaments, doses, voies d'administration et protocoles pour le traitement du KO [11].

Médicament	Dose	Voie d'administration
Gonadorelline (GnRH)	100 µg	IM
hCG	10 000 U	IM
Dinoprost (PGF2α)	25 mg	IM
Cloprosténol (PGF2α)	500 µg	IM
Progestérone	1,9 g	Implant intravaginal

Protocoles de traitement

(1) GnRH (ou hCG) + PGF2α (jour 0) ; PGF2α (jour 9 en l'absence d'oestrus)

(2) Ovsynch : GnRH (jour 0) ; PGF2 α (jour 7) GnRH (jour 9) ; IA à temps fixe, 16 h après le dernier traitement à l'aide de la GnRH

(3) Implant de progestérone pendant 12 jours (pas pour les vaches laitières)

1.8.3 Traitement préventif

Les stratégies visant à réduire l'incidence du KO doivent être axées sur la réduction des maladies et du stress et sur l'optimisation de la ration alimentaire au cours du tarissement et du PP [176]. En effet, le vêlage, la période d'involution et le début de lactation sont à l'origine d'un désordre métabolique lié à une augmentation de la production des radicaux libres. L'administration des antioxydants (β -carotènes, Se) peut être le moyen le plus efficace pour éliminer ou réduire les effets néfastes de ce stress [280]. Selon López-Gatius et al. [173], l'évaluation régulière de la note de l'état corporel permet de vérifier l'évolution et la durée de la balance énergétique négative. On devrait se fixer l'objectif à long terme de sélectionner des familles de vaches dont la production laitière est supérieure, mais n'ayant pas de prédisposition génétique vis-à-vis de la maladie [176].

Dans le but de restaurer une activité ovarienne aussi rapidement que possible et de réduire l'incidence du KO, une injection de GnRH, 10 à 15j PP a été recommandée [281] et afin de diminuer le risque de métrite, l'association de cette hormone avec la PGF2 α , 10-15j plus tard a été aussi recommandée [282]. Récemment, Noseir et al. [283] n'ont trouvé aucun effet significatif sur les paramètres de fertilité, en administrant une double dose de GnRH (Receptal et cystorlin) au 14^{ème} et au 21^{ème} j post-partum, respectivement.

CHAPITRE 2
ETUDE MACROSCOPIQUE & MICROSCOPIQUE DES UTERI
RÉCOLTÉS EN POST-MORTEM

CHAPITRE 2

ETUDE MACROSCOPIQUE & MICROSCOPIQUE DES UTERI RÉCOLTÉS EN POST-MORTEM

Il est évident que les causes de l'infertilité sont nombreuses dont les anomalies génitales qui jouent un rôle important dans l'échec de l'élevage bovin vu les pertes économiques qui en découlent [284]. Pour pouvoir minimiser ces pertes, il est important de définir et de déterminer la fréquence des différentes pathologies génitales surtout au niveau de l'abattoir qui constitue une véritable source d'étude pour ces dernières [285] car il permet la mise en évidence des anomalies et/ou des lésions difficiles à détecter in vivo. Plusieurs études ont été effectuées dans le monde [286-288]. Certains auteurs ont rapporté que la lésion la plus fréquente était l'infection utérine [284, 288] tandis que Abalti *et al.* [285] ont noté que l'incidence de l'adhérence ovarobursale était la plus élevée, suivie de celles de l'endométrite et du KO, respectivement.

De ce fait, la présente étude a été réalisée dans le but de :

- Etudier la fréquence des anomalies macroscopiques des uteri de vaches rencontrées à l'abattoir d'El-Harrach en Algérie tout en prêtant attention au kyste ovarien.
- A cet effet, nous avons effectué un examen histo-pathologique sur les fragments ovariens kystiques pour diagnostiquer les types du KO et sur les parois utérines correspondantes afin de noter la corrélation des changements histologiques de ces parois avec les variations des niveaux des hormones ovariennes dans le cas du KO.
- Nous avons profité de noter aussi la fréquence des vaches gestantes réformées ainsi que l'influence de la saison sur l'apparition du kyste ovarien.

2.1 Matériels et méthodes

2.1.1 Animaux

Au niveau de l'abattoir d'El-Harrach de la capitale Alger et durant la période comprise entre 01/01/2010 et 30/04/2014, 2025 appareils génitaux de vaches abattues (provenant de différentes races : Prim'Holstein, Montbéliarde, Fleckvieh et

croisée) ont été récupérés, collectés dans des sachets en plastique et apportés au laboratoire aussitôt que possible afin de minimiser les changements autolytiques.

2.1.2. Procédures de l'examination

A/ Examen macroscopique

* *Examen de l'utérus* : A l'examen externe et à l'aide d'un mètre ruban et d'un pied à coulisses, nous avons pris les mensurations du col et des cornes (diamètre et longueur). Nous nous sommes intéressés à noter l'existence d'une modification de volume et d'une asymétrie entre les 2 cornes utérines. Après cet examen, le col et les cornes ont été incisés afin de rechercher la présence d'éventuelles sécrétions intra-utérines anormales ainsi qu'une congestion de leurs muqueuses.

* *Examen des oviductes* : Dans cet examen, nous avons prêté attention aux éventuelles adhérences et modifications de volume, de taille, de couleur de ces oviductes et à leur contenu.

* *Examen des ovaires* : L'inspection et la palpation des ovaires ont été faites dans le but de noter les différentes formations se trouvant dessus ainsi que l'existence éventuelle d'une adhérence ovaro-bursale.

B/ Examen microscopique

L'étude histologique a été réalisée au niveau de 02 laboratoires d'anatomie pathologique (l'un de l'ENSV et l'autre du CHU Mustapha Bacha). Nous avons prélevé des pièces histologiques sur les différents segments de l'appareil génital présentant différentes lésions afin d'effectuer la technique histologique traditionnelle, Hémalum & Eosine (H&E).

a. Mode de prélèvement

Des fragments de 1cm de long et de 1cm de large ont été coupés à l'aide de bistouri, tout en s'assurant que les différentes couches des parois y figurent.

b. Technique histologique

Afin d'arriver à monter une lame histologique observable au microscope, les fragments prélevés doivent subir un traitement selon la technique histologique classique. Cette technique consiste en une : fixation, déshydratation, enrobage en paraffine, microtomie, coloration à l'Hémalun-Eosine et observation au microscope optique (Figure 2.1). Ces étapes sont bien décrites en annexe 2.

Plus particulièrement, dans l'examen histologique des KO, nous nous sommes intéressés aux points suivants :

- ✓ La granulosa : présente ou absente, nombre de ces couches cellulaires.
- ✓ La thèque interne : son arrangement avec la lame basale, la forme et le type de ces cellules.
- ✓ La lame basale : présente ou absente.

De plus, dans les parois utérines correspondantes à des ovaires kystiques, nous avons noté :

- ✓ L'aspect de l'épithélium luminal.
- ✓ La morphologie glandulaire.
- ✓ L'existence des changements vasculaires et de l'œdème au niveau du stroma.



Laboratoire de l'Anatomie pathologique (ENSV) Réalisation de la microtomie



Appareillage de l'enrobage par la paraffine



Différentes étapes de coloration



Observation au microscope optique

Figure 2.1 : Matériels utilisés dans la réalisation de l'étude histologique
(Photos personnelles)

2.1.3 Analyses statistiques

Les données sont analysées au moyen de logiciel de traitement des données Statistica (Version 10, Stat Soft France, 2003). L'analyse statistique a été réalisée par l'application des tests non paramétriques (test Khi deux). Le seuil de signification est fixé à 5%.

2.2 Résultats

2.2.1 Etude macroscopique et microscopique des uteri

Dans cette étude, nous avons constaté que sur les 2025 tractus génitaux examinés, 334 (16.49%) ont été pleins (Figure 2.2) (ce qui signifie une gestation avec seulement un cas de gémellité) et 1691 (83.51%) vides. Sur ces derniers, 790 (46.72%) tractus n'ont présenté aucune anomalie visible, que ce soit au niveau des ovaires, des oviductes ou des uteri. Sur le reste (53.28%), nous avons noté différentes lésions que nous décrivons ci-dessous.



Figure 2.2 : Embryons et fœtus (échelle : cm)

(Photos personnelles)

2.2.1.1 Anomalies relevées sur l'utérus

Les lésions macroscopiques que nous avons recherchées sur l'utérus sont celles rencontrées habituellement en cas d'infection (congestion de la muqueuse utérine, présence de sécrétions intra-utérines anormales) et de malformation utérine. Les fréquences avec lesquelles ces lésions sont isolées sur les matrices examinées sont présentées dans la figure 2.3.

D'après cette figure, l'infection utérine est notée par la plus grande fréquence qui est de 12.47% (Figure 2.4), suivie par la cervicite et le mucomètre, (3.84% et 1.18%, respectivement). Les tumeurs de l'utérus sont révélées dans 05 cas, soit une fréquence de 0.29% (Figure 2.5). Parmi les anomalies congénitales, le col double est trouvé dans 12 cas (0.71%), suivi par l'utérus unicorne (2 cas, avec une fréquence de 0.11%). Un cas typique de col triple est noté dans cette étude (0.06%), de même qu'une malformation au niveau de la corne gauche (Figure 2.6). Il faut signaler que plus d'une lésion peut être observée sur le même utérus.

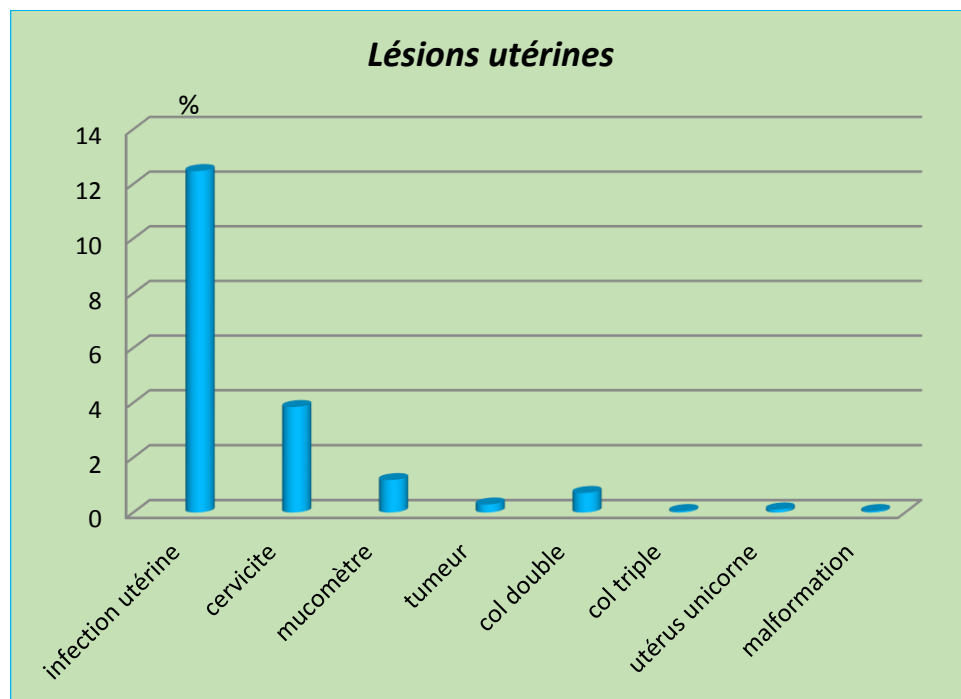
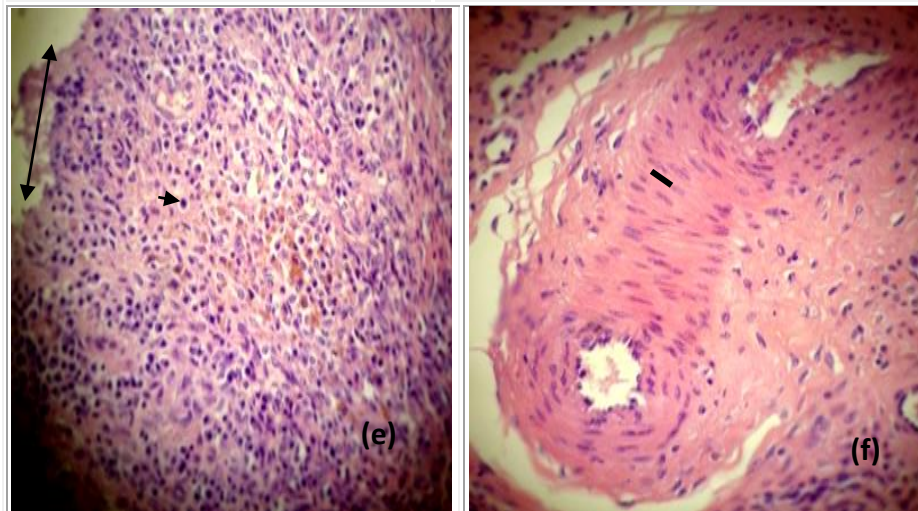
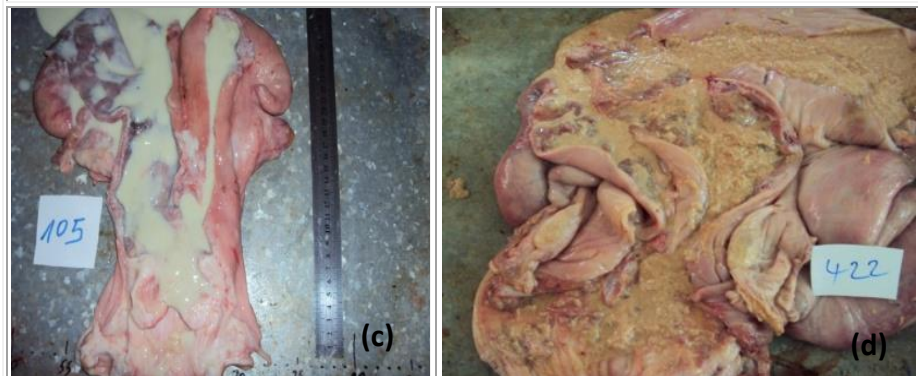
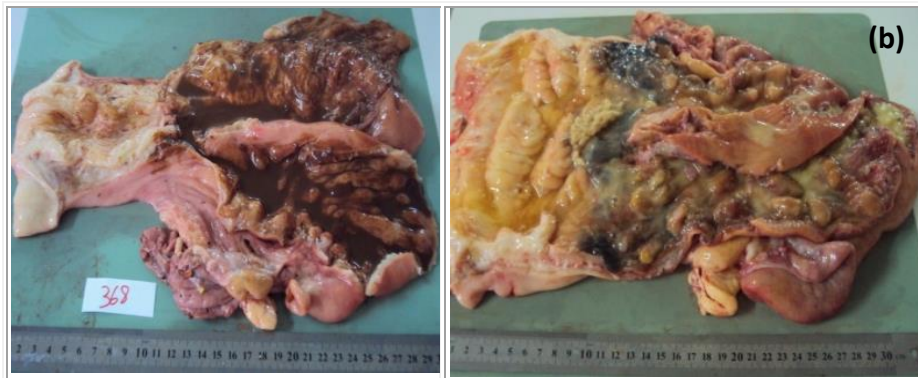


Figure 2.3 : Répartition et fréquence des lésions de l'utérus

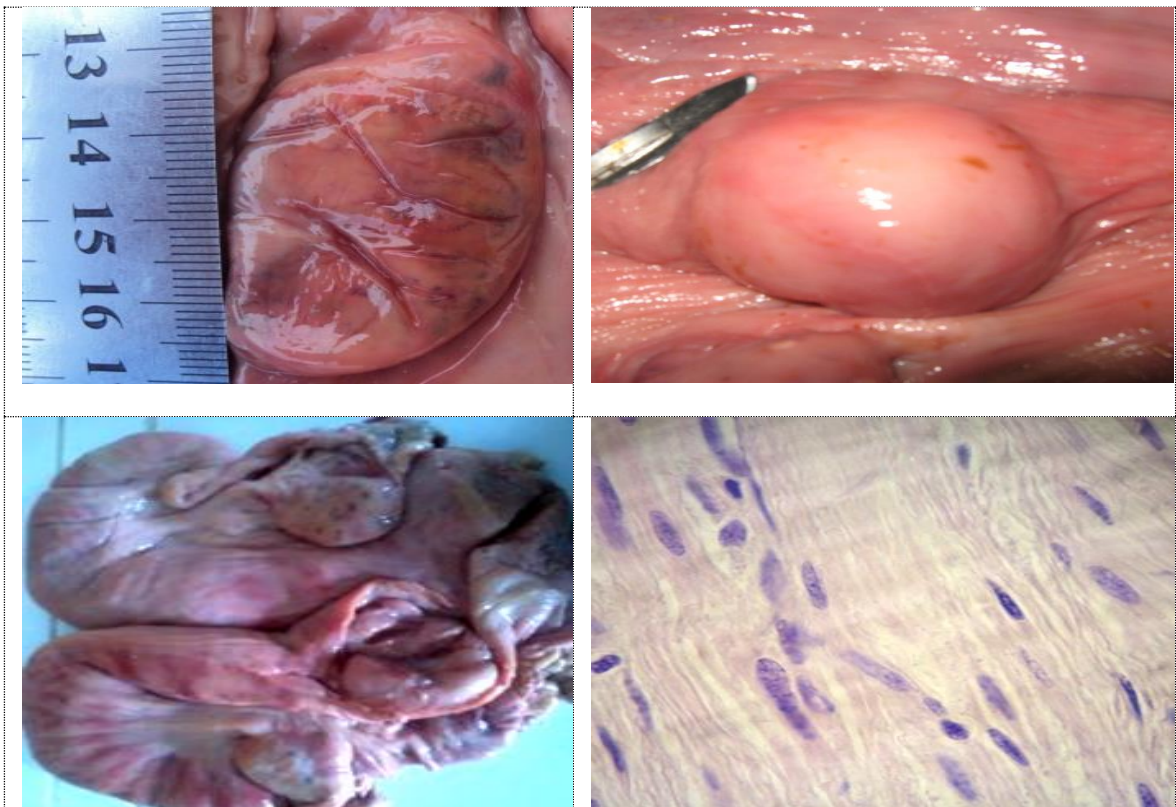
(a)



Infections utérines avec différents aspects : (a) hémorragique, (b) nécrotique et purulent, (c) et (d) purulent. L'examen microscopique de la paroi utérine (c) montre :

- forte infiltration par les cellules inflammatoires;
- fibrose périvasculaire et destruction complète de l'épithélium de surface (Gx400)

Figure 2.4 : Infections utérines (Photos personnelles)



Tumeur utérine (Léiomyome) : l'examen macroscopique montre l'aspect nodulaire, avec une dimension moyenne de 4x3cm. Microscopiquement, cellules fusiformes, à cytoplasme éosinophile, avec noyau ovalaire en bout de cigar (GX1000)

Figure 2.5 : Tumeurs utérines (Photos personnelles)

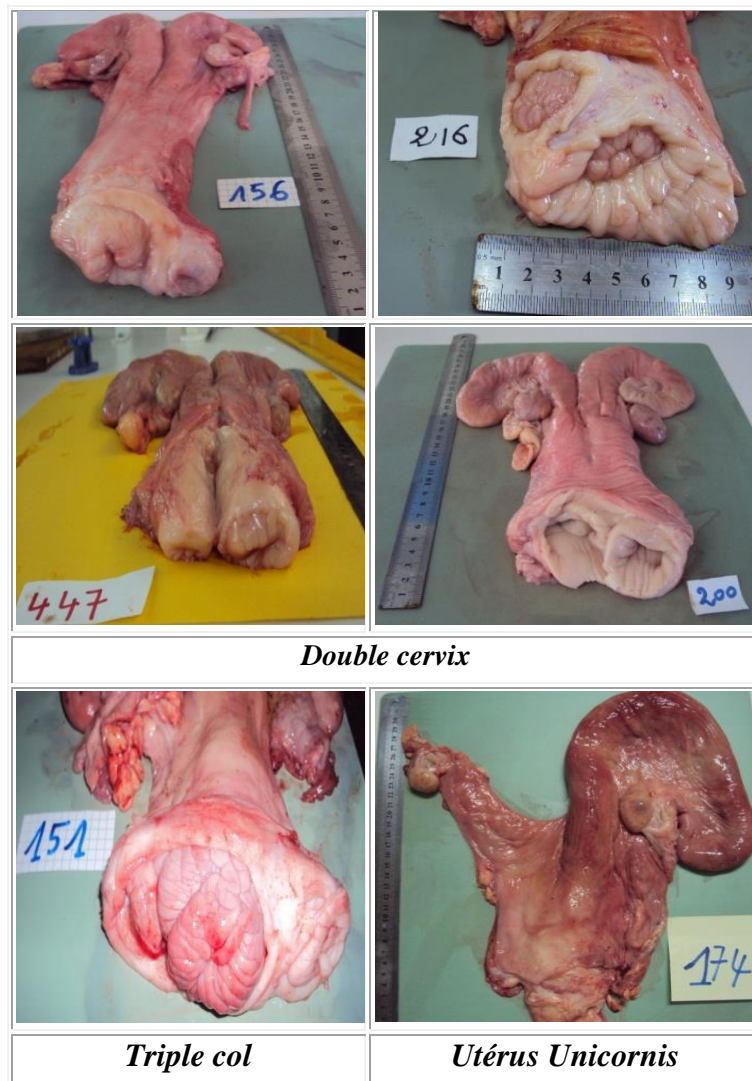


Figure 2.6 : Anomalies congénitales de l'utérus

(Photos personnelles)

2.2.1.2 Lésions des oviductes

Dans la figure suivante, nous avons résumé les différentes lésions observées sur les oviductes examinés.

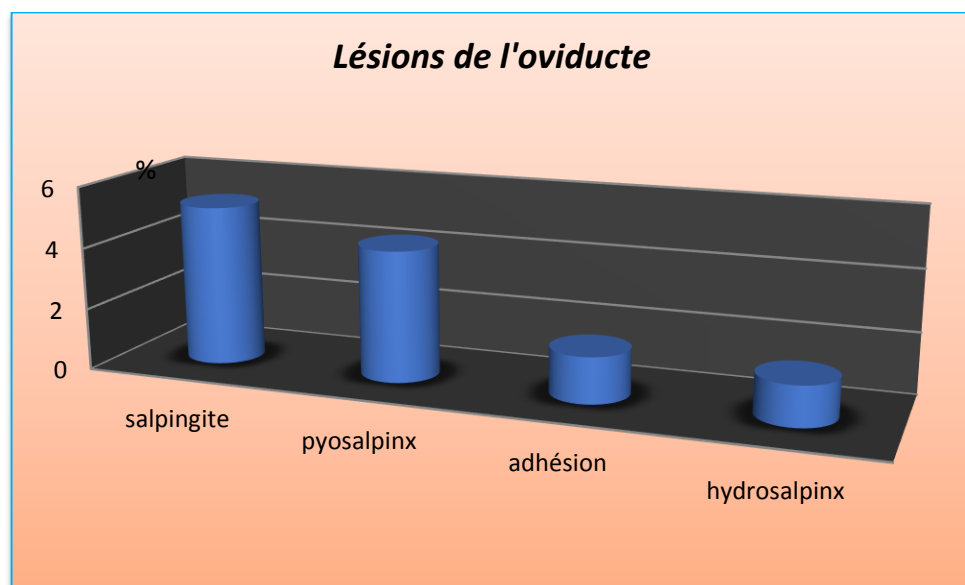


Figure 2.7 : Répartition et fréquence des lésions de l'oviducte

La salpingite et le pyosalpinx sont de loin les 2 lésions les plus importantes de point de vue fréquence. Elles sont relevées sur 88 (5.20%) et 72 (4.26%) oviductes, respectivement. L'adhérence et l'hydrosalpinx ayant les plus faibles fréquences, sont notées dans 26 (1.54%) et 22 (1.30%) cas, respectivement (Figure 2.8).

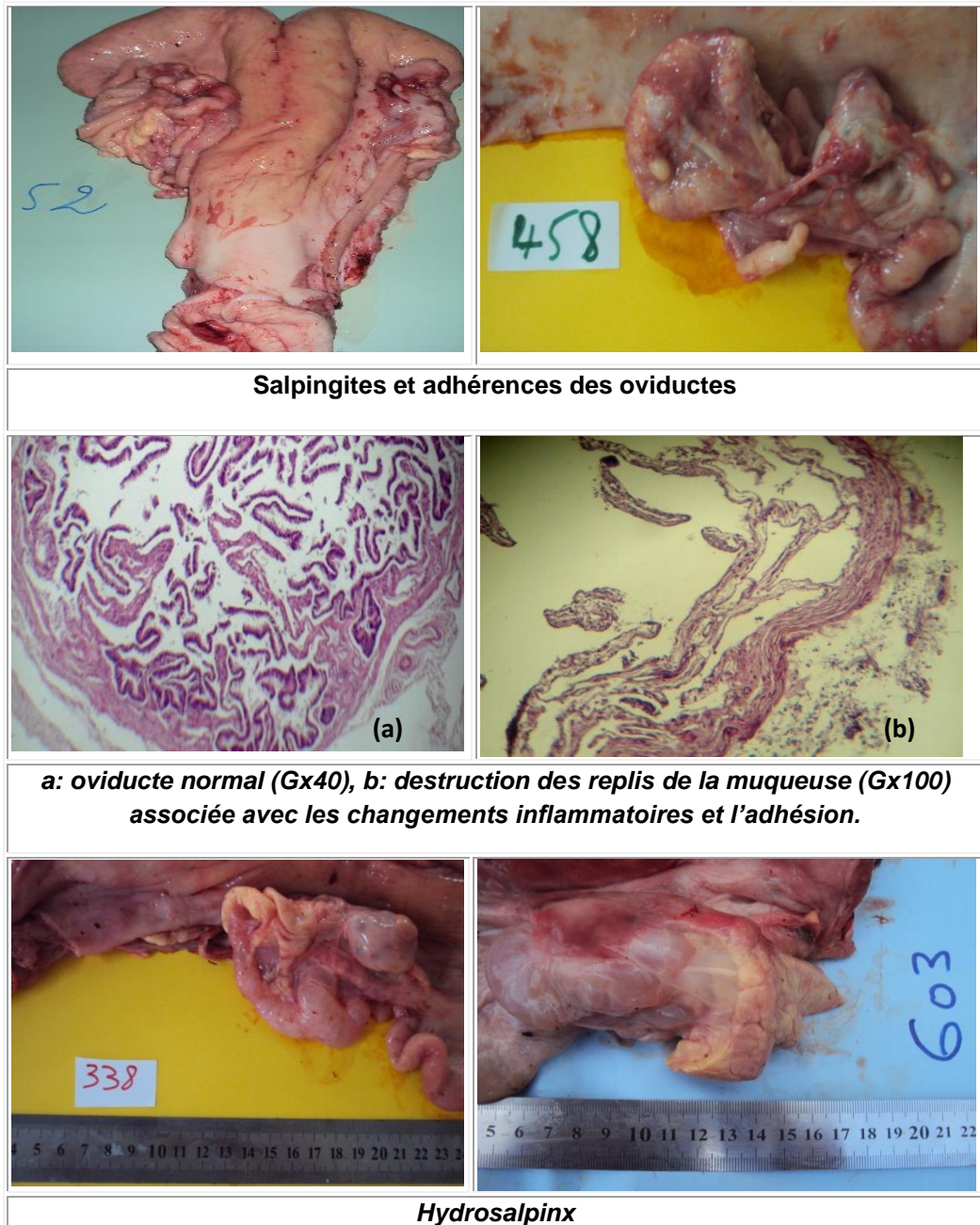


Figure 2.8 : Lésions des oviductes (Photos personnelles)

2.2.1.3 Lésions ovariennes

L'examen minutieux des ovaires faisant l'objet de notre étude a révélé la présence de différentes lésions présentées dans la figure 2.9. Selon cette dernière, il est très évident que le kyste ovarien est la lésion la plus fréquente, rencontrée dans 241 cas (14.25%) suivi par l'adhérence ovaro-bursale (5.38%) et les ovaires petits et lisses (1.95%) (Figure 2.10). Les lésions les plus faiblement notées dans notre étude sont les ovarites (ou oophorites) et les tumeurs ovariennes qui ont la même fréquence (0.24%) ainsi que les kystes parovariens (0.18%) (Figure 2.11, 2.12, 2.13, 2.14, et 2.15).

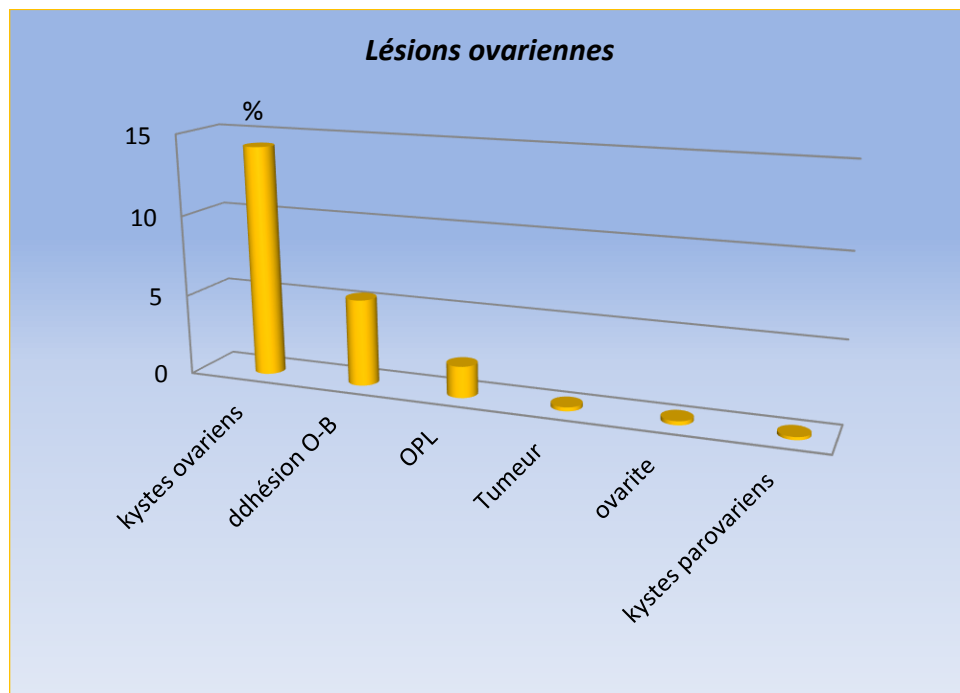


Figure 2.9 : Répartition et fréquence des lésions de l'ovaire

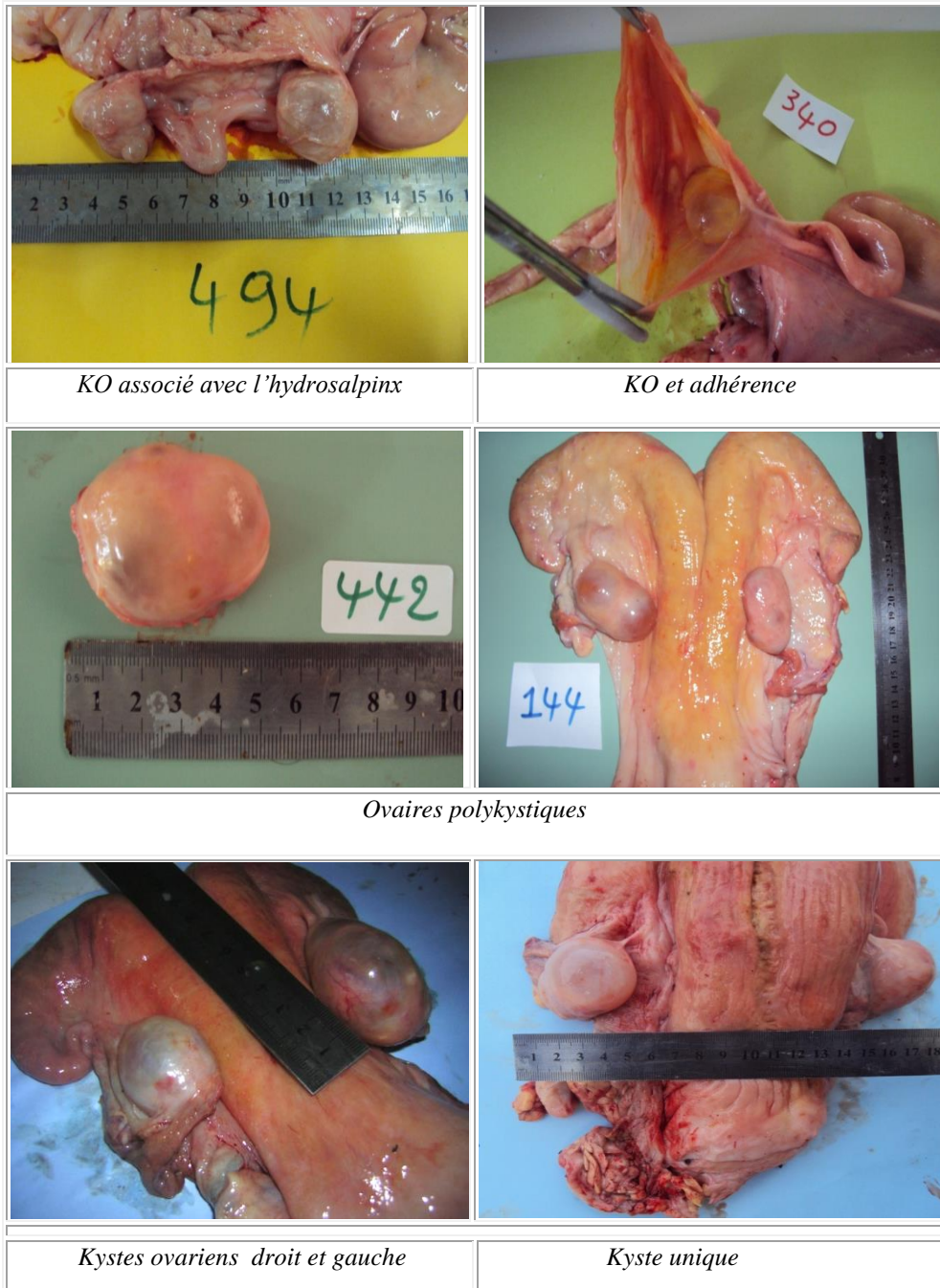
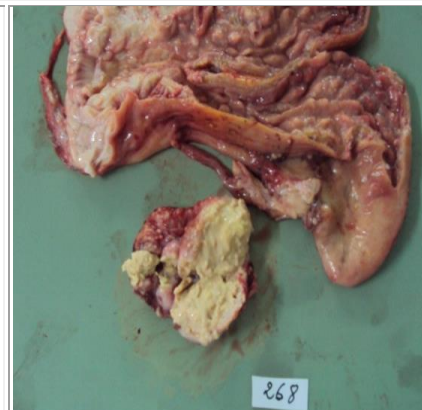
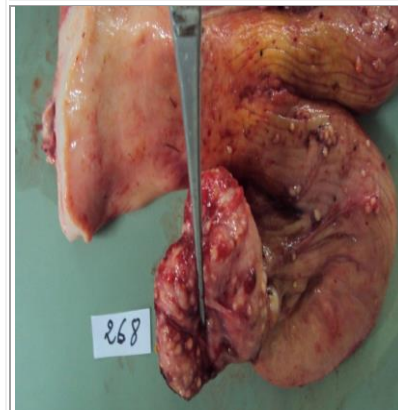
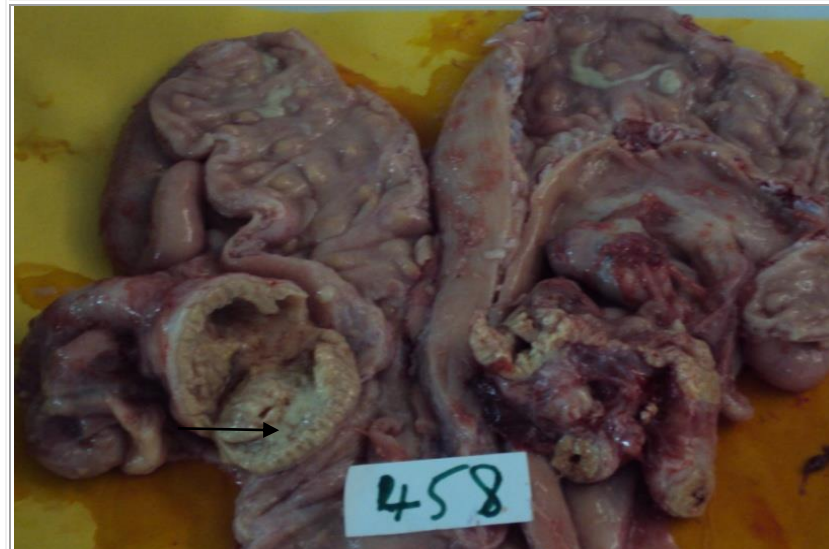


Figure 2.10 : Kystes ovariens (Photos personnelles)

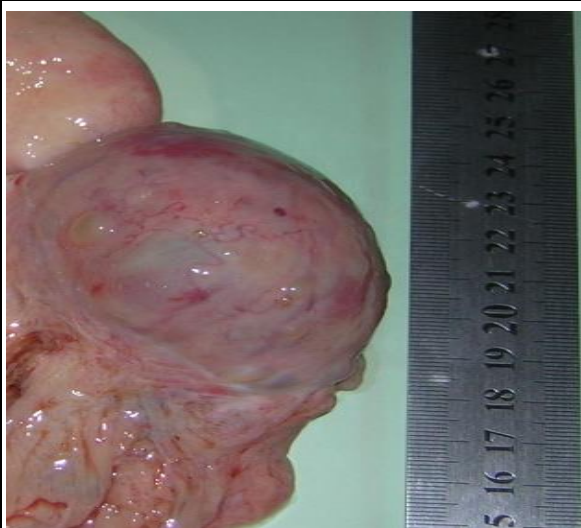


→ Aspect blanc-jaunâtre du pus rappelant la nécrose caséuse pathognomonique de la tuberculose

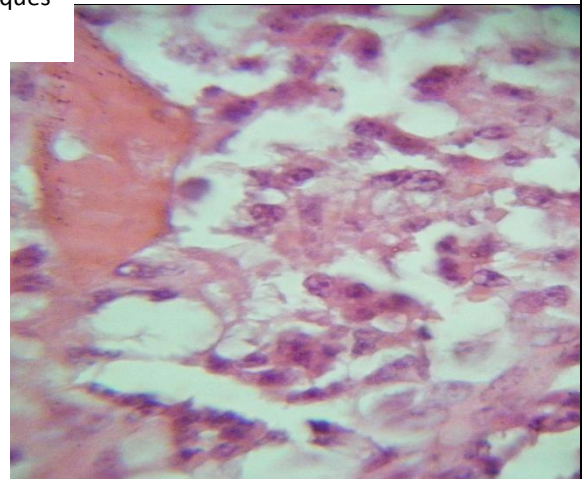
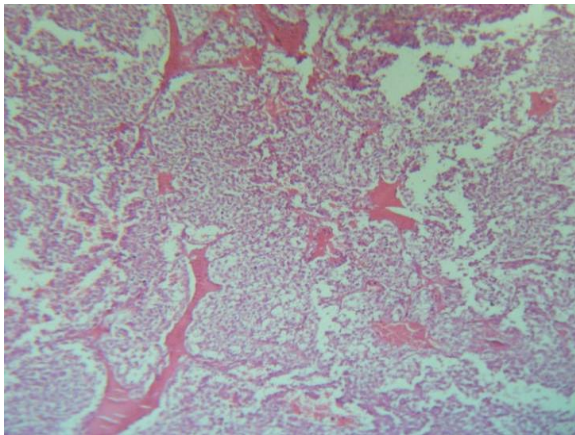


Ovarite + salpingite + endométrite

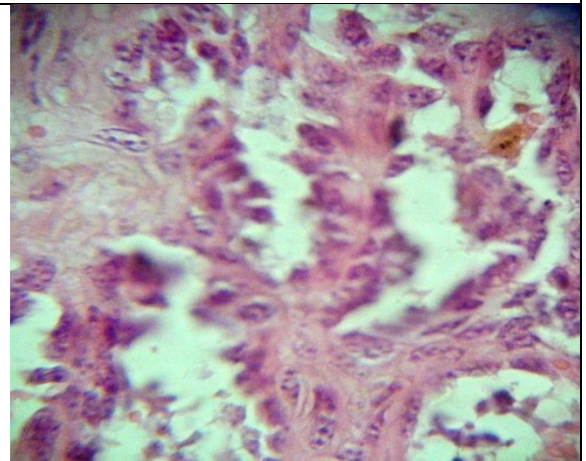
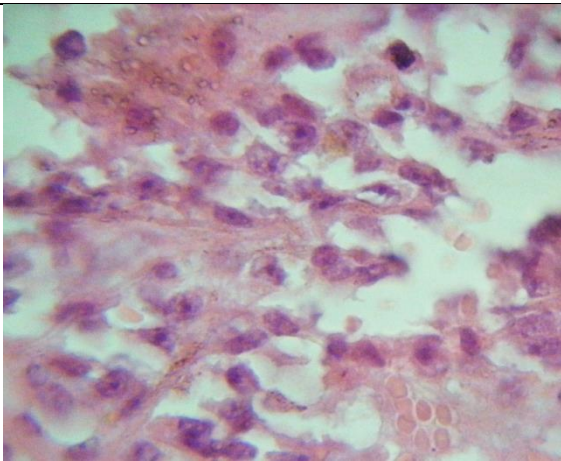
Figure 2.11 : Ovarites (Photos personnelles)



Macroscopiquement, tumeur de 5x4.2 cm de diamètre, présentant après incision, des foyers nécrotiques et hémorragiques.
Architecture massive avec remaniements hémorragiques
(Gx100)



Aspect des noyaux incissurés, avec limite cytoplasmique floue (Gx1000)



Architecture trabéculaire (Gx1000)

Architecture papillaire (Gx1000)

Figure 2.12 : Tumeur ovarienne (Tumeur des cellules de la granulosa 1) (Photos personnelles)

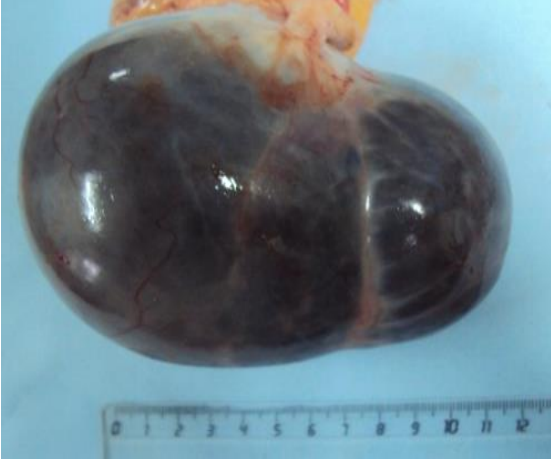
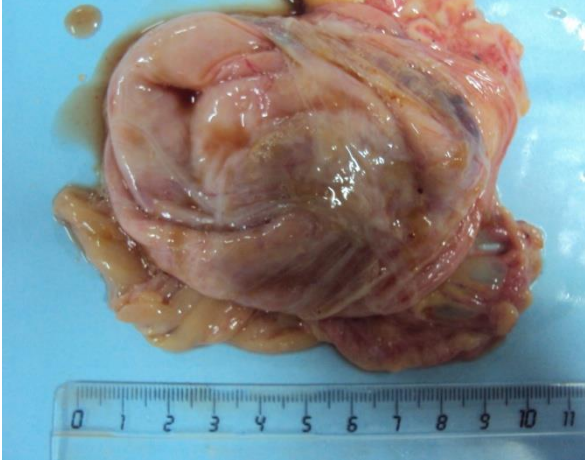
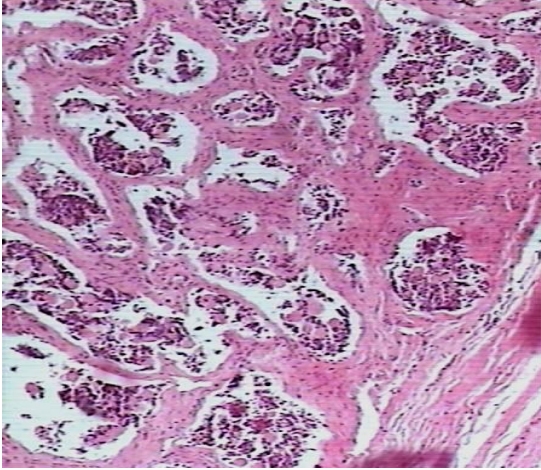
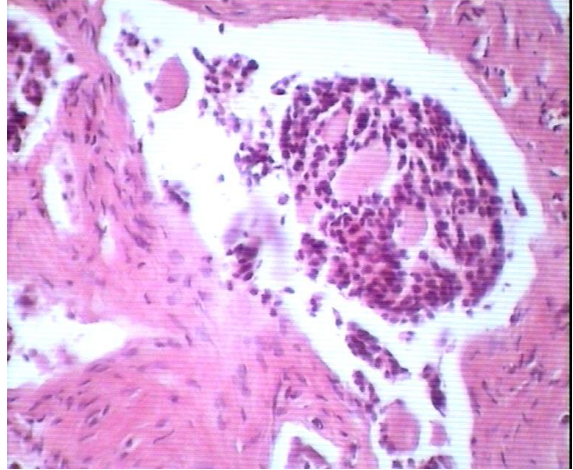
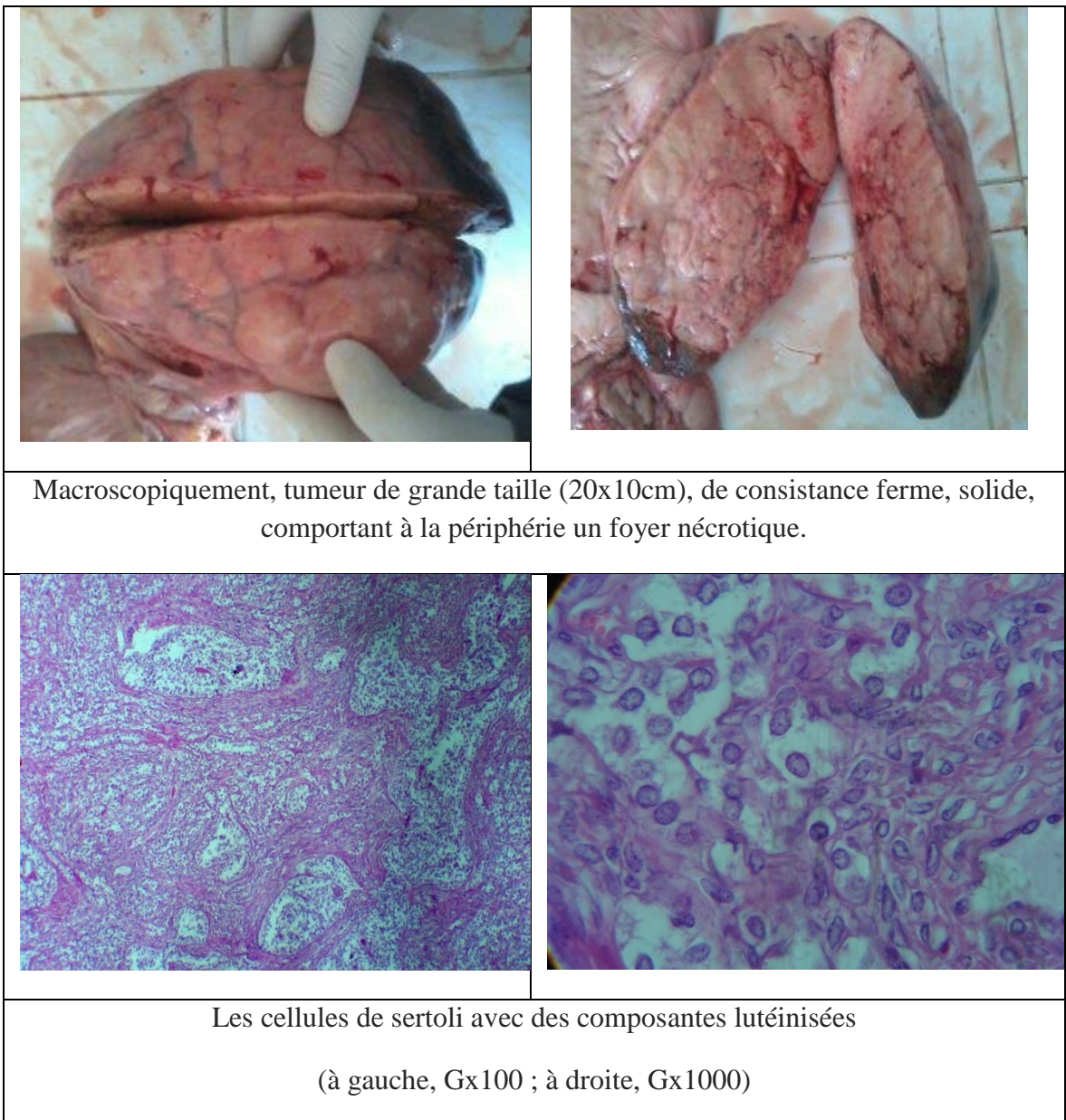
	
<p>Macroscopiquement, formation de grande taille (20x14cm), kystisée, encapsulée, brunatre, de consistante rénitante.</p>	
	
<p>Architecture sous forme de nids, d'amas, travées épaisses (Gx100)</p>	<p>Aspect cribriforme, architecture microfolliculaire, lumière occupée par des sécrétions éosinophiles et bordées par des petites cellules tumorales monomorphes basophiles, rondes, à noyau incisé (constituant la forme en rosette : Call Exner Body) (Gx400).</p>

Figure 2.13 : Tumeur ovarienne (Tumeur des cellules de la granulosa 2)

(Photos personnelles)



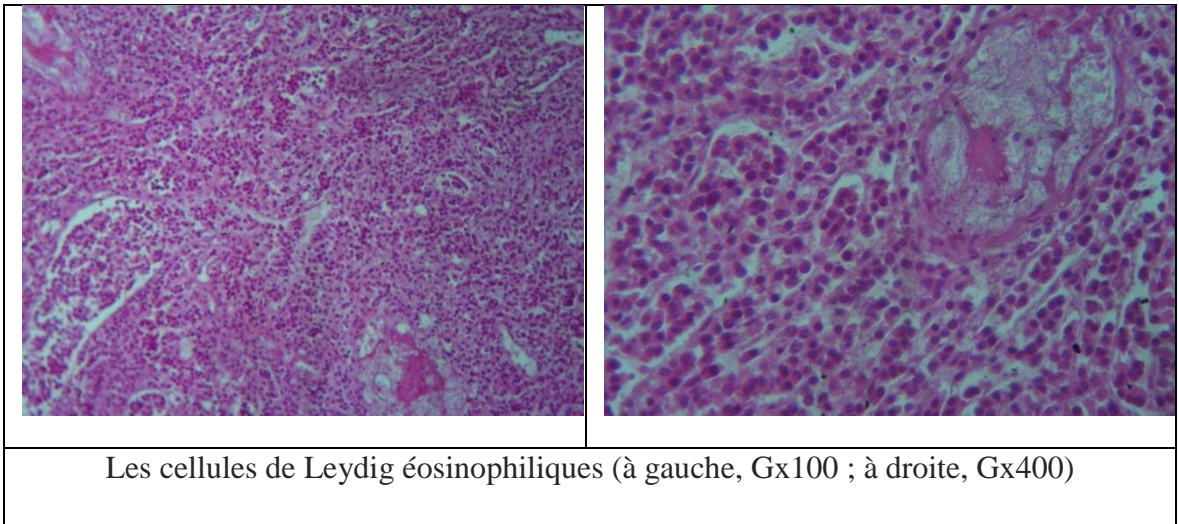
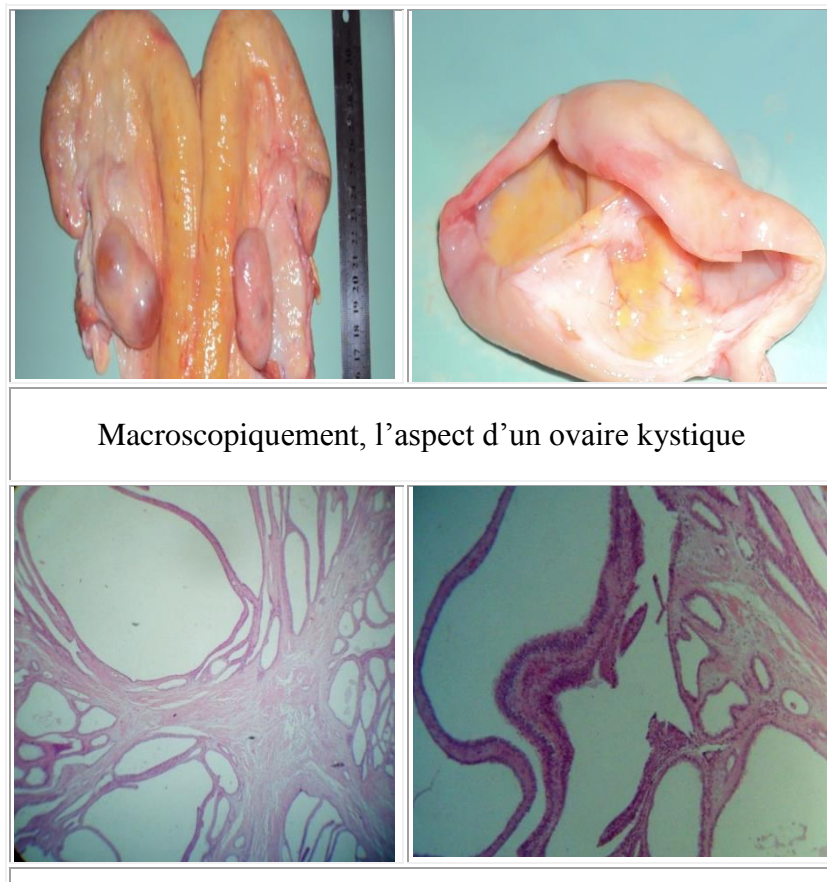
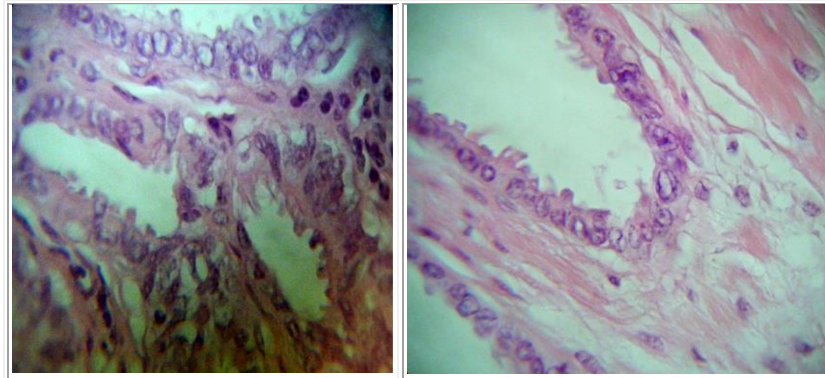


Figure 2.14 : Tumeur ovarienne (Tumeur des cellules de Sertoli-Leydig) (Photos personnelles)





Au faible G, aspect multiloculaire dont les cavités sont séparées par des travées fibreuses. Au fort G, les kystes sont tapissés par un épithélium unistratifié, fait de cellules à cytoplasme éosinophile et noyau doté d'une chromatine fine (en haut : à gauche, Gx100 ; à droite, Gx400, en bas : Gx1000).

Figure 2.15: Tumeur ovarienne (Cystadénome ovarien) (Photos personnelles)

2.2.2 Etude macroscopique et microscopique des Kystes ovariens

L'aspect macroscopique regroupant la position, la paroi et le nombre des 241 kystes ovariens rencontrés dans notre travail, ainsi que l'influence de la saison sur la fréquence des KO sont élucidés dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1: Répartition et fréquence des kystes ovariens selon les caractéristiques macroscopiques et la saison

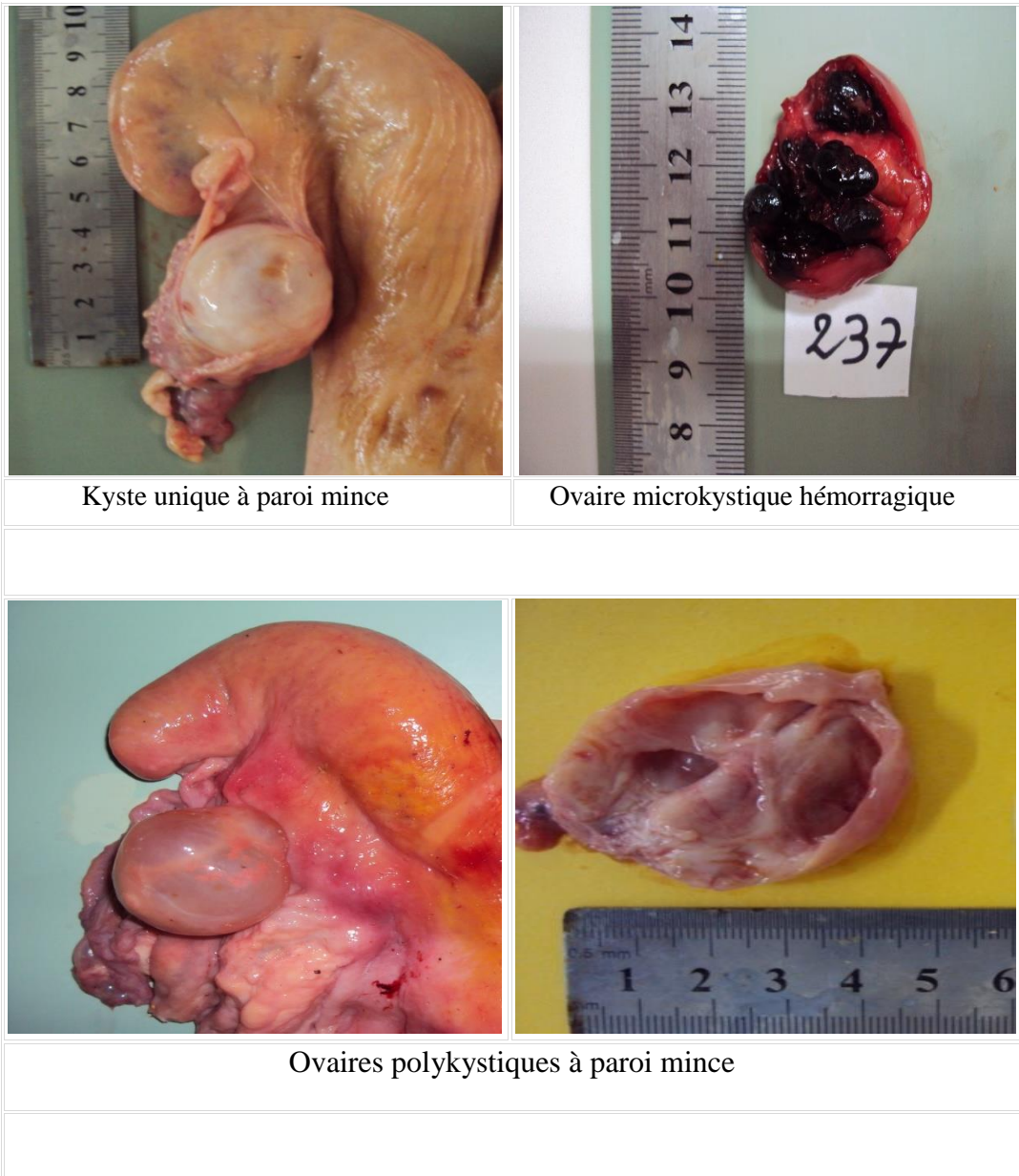
Aspect macroscopique des KO		n	%
Position	<i>Droit</i>	156	64.73
	<i>Gauche</i>	70	29.05
	<i>Droit et gauche</i>	15	06.22
	<i>P</i>	***	
Paroi	<i>Mince</i>	170	70.54
	<i>Epaisse</i>	70	29.05
	<i>Microkystique hémorragique</i>	1	0.41
	<i>P</i>	***	
Nombre	<i>Kyste unique</i>	204	84.65
	<i>Ovaires polykystiques (3 ou plus)</i>	37	15.35
	<i>P</i>	***	
Saison	<i>Eté</i>	95	39.41
	<i>Automne</i>	25	10.37
	<i>Hiver</i>	89	36.93
	<i>Printemps</i>	32	13.27
	<i>P</i>	***	

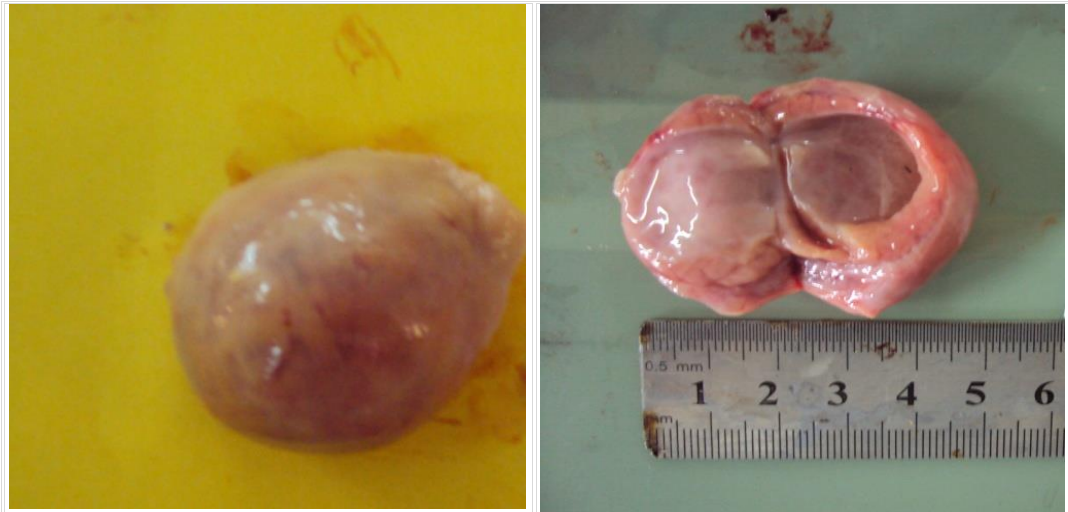
P : *** (P < 0.001, différence hautement significative)

D'après ce tableau, l'ovaire droit est le plus atteint par la pathologie kystique avec une fréquence de 64.73% par rapport à l'ovaire gauche (29.05%). L'atteinte simultanée des 2 ovaires est estimée par une fréquence égale à 06.22%.

La majorité des kystes (70.54%) ont une paroi mince et sont donc des KF alors que 29.05% ont une paroi épaisse et sont qualifiés de KL. Un seul cas (0.41%) d'ovaire microkystique hémorragique est retrouvé dans notre étude. Le kyste est

unique sur l'ovaire dans la plupart des cas (84.65%) et les ovaires polykystiques sont retrouvés dans 15.35% des cas (Figure 2.16). Concernant l'effet de la saison, les résultats montrent que la fréquence du KO est augmentée durant l'été et l'hiver (39.41% et 36.93%, respectivement). Cette fréquence diminue au cours du printemps (13.27%) et de l'automne (10.37%).



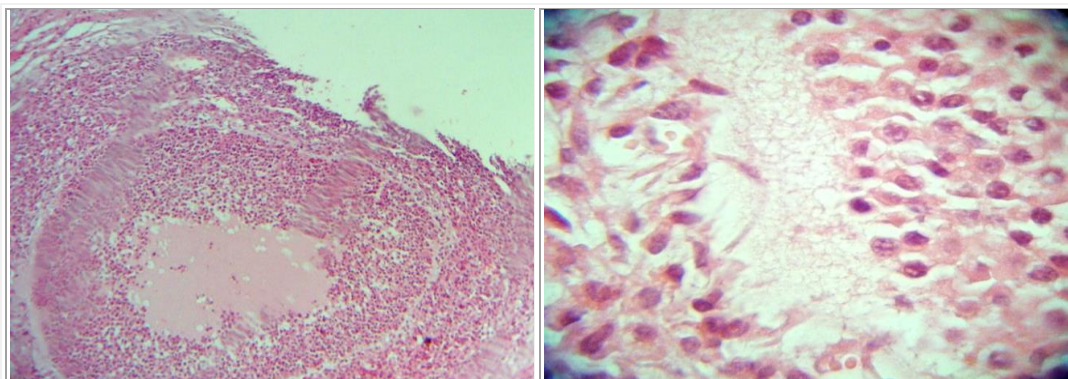


Kystes lutéinisés (à paroi épaisse)

Figure 2.16 : Caractéristiques macroscopiques des KO (Photos personnelles)

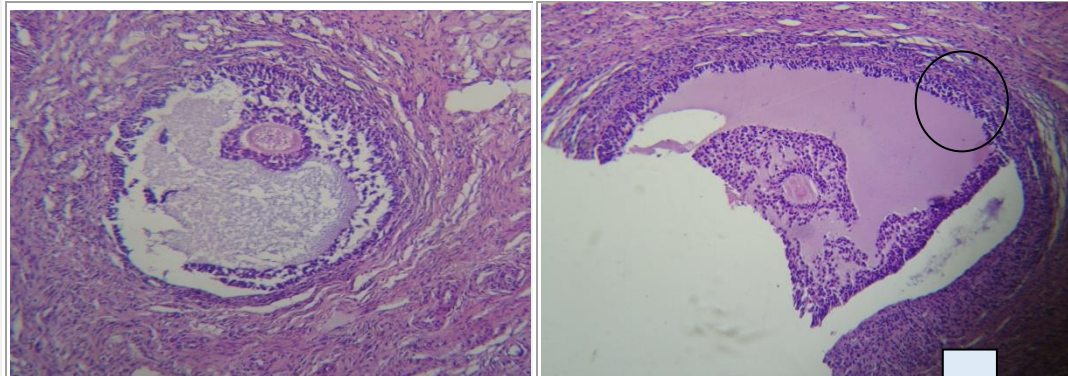
CG

Dans cette présente étude, plus de 600 lames histologiques ont été préparées et minutieusement examinées au microscope optique. Ces dernières concernent les formations physiologiques de l'ovaire (follicule, corps jaune) (Figure 2.17) et pathologiques (kystes ovariens).



Follicule en croissance (GX100), la zone encadrée est représentée à droite (G X 1000).

CG, cellules granuleuses ; CT, cellules thécales (Thèque interne) ; LB : lame basale.



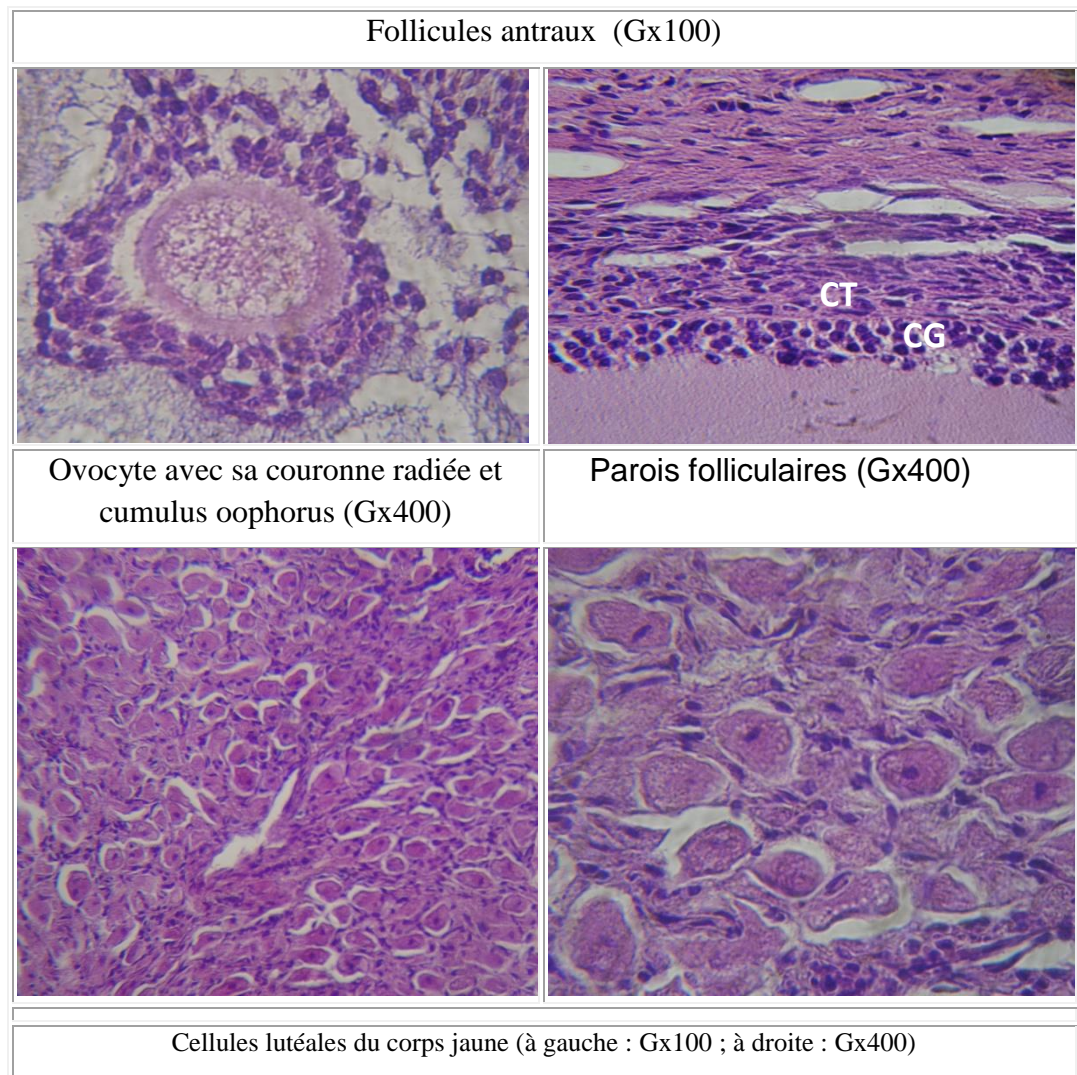


Figure 2.17 : Aspect histologique du follicule et du corps jaune (Photos personnelles)

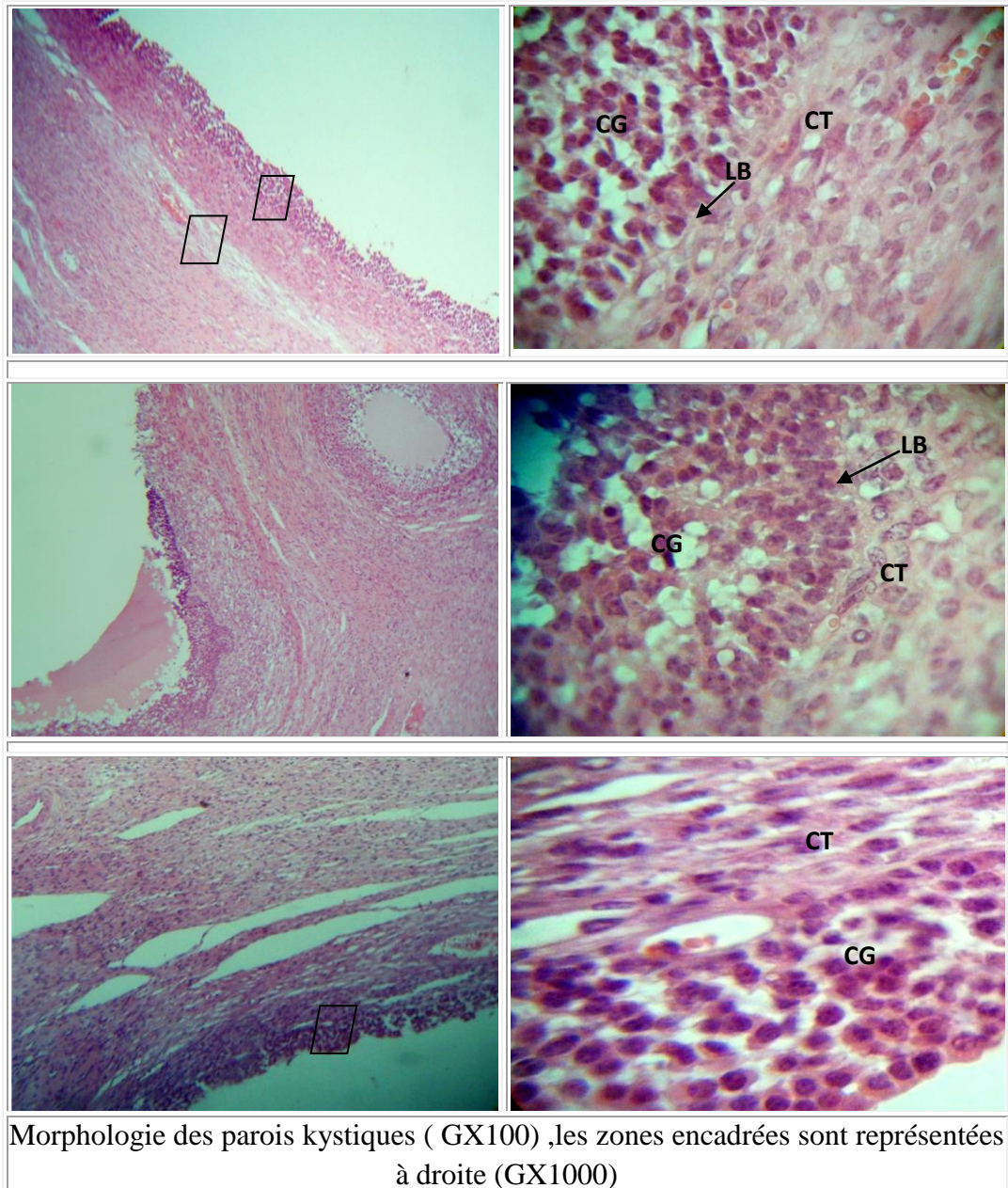
Plus particulièrement, l'examen histopathologique du kyste a été réalisé pour bien décrire les différents types du KO.

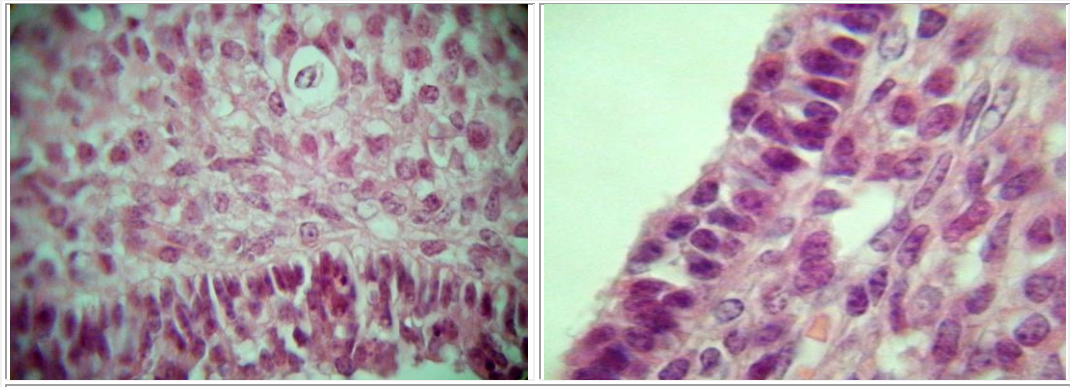
En se basant sur les travaux de Monniaux et al. [3] et Braw-Tal et al. [85], nous avons pu illustrer dans le tableau suivant les caractéristiques observées sur les lames préparées à partir de 240 prélèvements kystiques.

Tableau 2.2 : Répartition et fréquence des kystes selon les caractéristiques microscopiques de leurs parois

type	Caractéristiques microscopiques des parois kystiques								n	%
	Granulosa			Thèque interne			Lame basale(LB)			
	Couches multiples	1-2 couches	Absente	Cellules //à la LB	Cellules hypertrophiées	Cellules lutéinisées	présente	Absente		
KO										
KF	+	-	-	-	+	-	+	-	156	64.73
KL	-	+	+	-	-	+	-	+	84	34.85

D'après le tableau 2.2, les cellules de la granulosa de 156 kystes sont observées en couches multiples, la lame basale est présente, et les cellules de la thèque interne sont hypertrophiées, perdant leur arrangement caractéristique parallèle à la lame basale. Ces kystes sont classifiés comme étant des kystes jeunes ou KF (Figure 2.18). Cependant, dans le reste des KO (n=84), les cellules de la granulosa sont disposées en 1 à 2 couches seulement, parfois mélangées avec des cellules de la thèque interne qui se sont lutéinisées, et donc à peine identifiées par microscopie. Dans ce type du KO, la lame basale est absente. Ces kystes sont qualifiés de KL (Figure 2.19).

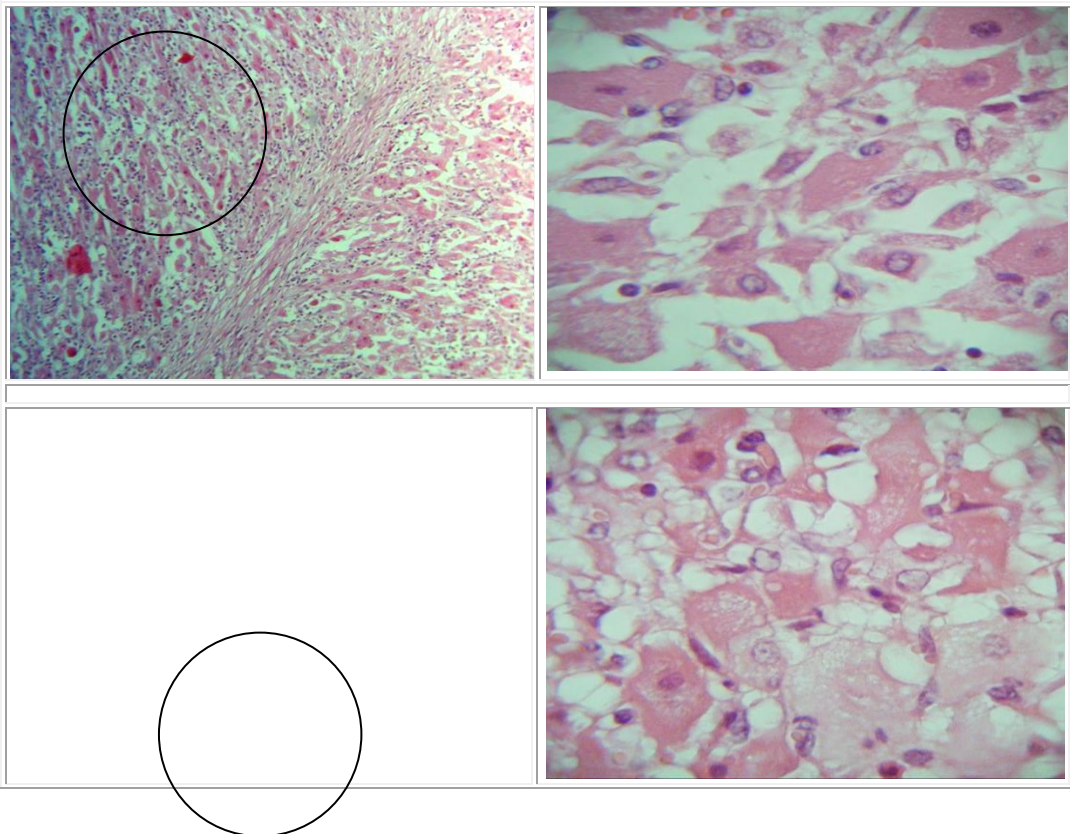




Parois kystiques (GX1000)

Figure 2.18 : Aspect histopathologique des Kystes folliculaires

(Photos personnelles)



Morphologie des parois kystiques (à gauche, en haut, Gx100 ; en bas, Gx40), les zones de lutéinisation entourées sont représentées à droite (à Gx1000)

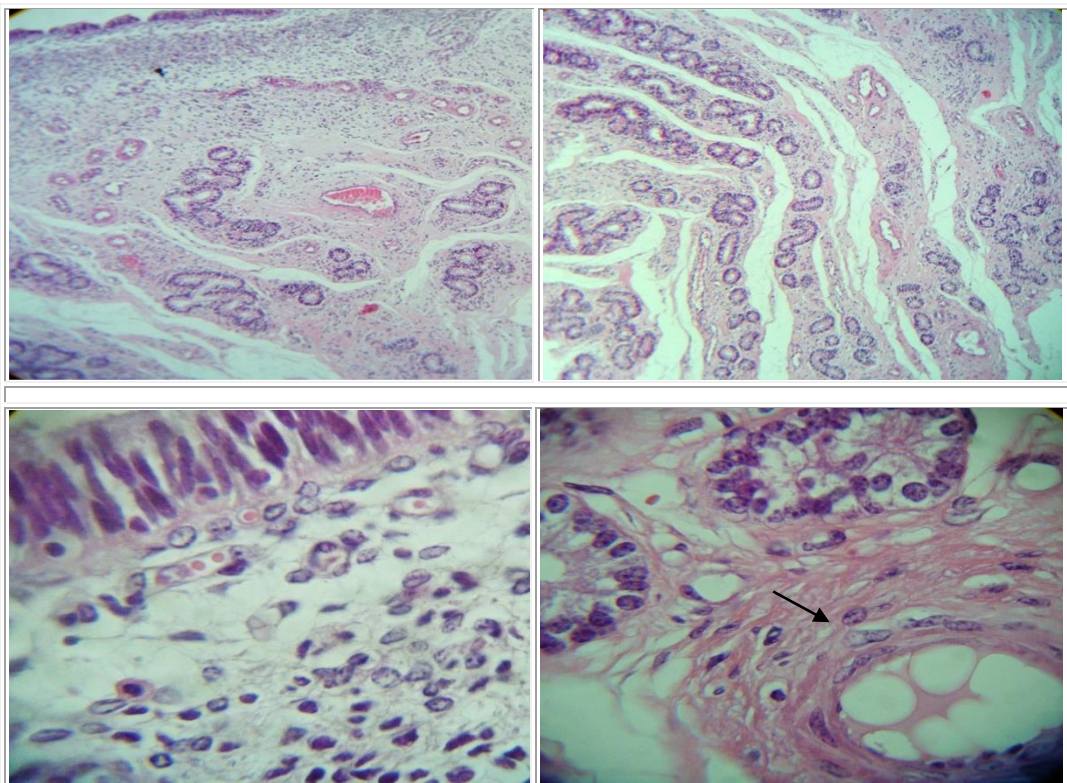
Figure 2.19 : Aspect histopathologique des Kystes lutéaux (Photos personnelles)

Et dans le tableau qui suit, nous avons noté les modifications observées microscopiquement sur les uteri correspondants aux ovaires kystiques.

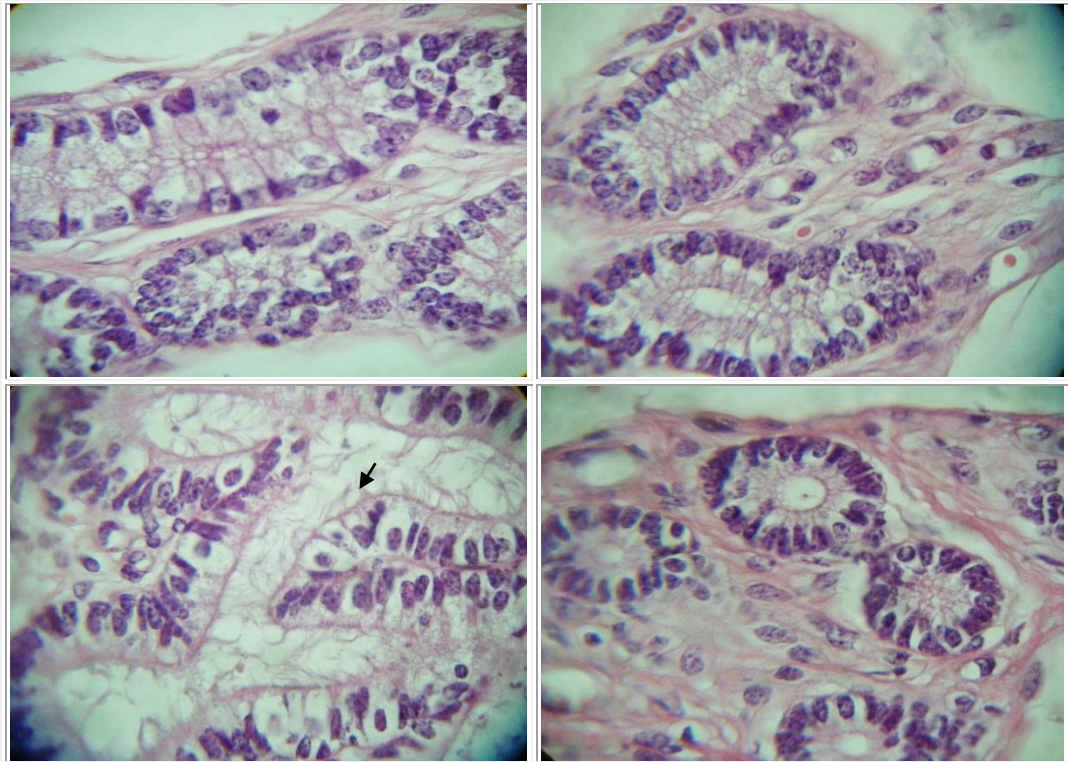
Tableau 2.3 : Répartition des uteri selon les caractéristiques de leurs parois, correspondants à des ovaires kystiques

type du ko	Caractéristiques des parois utérines correspondantes						
	Epithélium			Stroma		Glandes	
	Présent	Abrasé	mitoses	œdème	changements vasculaires	développées	détruites
KF	+		++	+	+++	+	
KL	+				+	+++	

Selon le tableau 2.3, L'épithélium de la plupart des uteri correspondant aux animaux avec des KF est en mitoses, les changements vasculaires (spiralisation des artères, congestion) dans ces derniers sont très accentués et les glandes sont rectilignes et en développement. L'épithélium étant abrasé dans quelques uns (cela dépend de la surface de coupe : artéfacts). Cependant, les uteri correspondants à des ovaires à KL ont des changements vasculaires moins accentués mais les glandes sont très développées, contournées et les microvillosités sont plus abondantes, réduisant ainsi la lumière glandulaire (Figure 2.20 et 2.21).

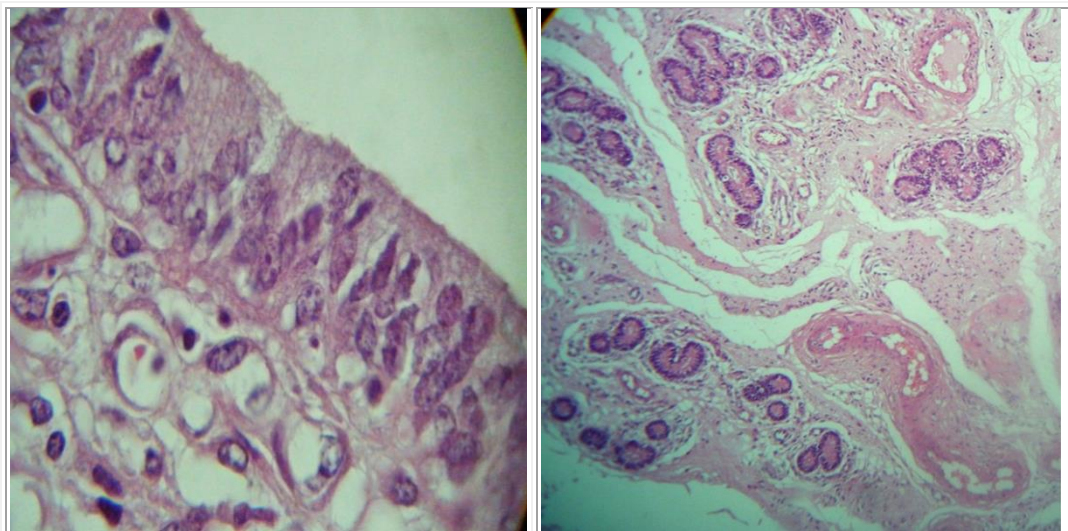


Épithélium en mitoses et glandes peu développées, → importants changements vasculaires (artère spiralée et œdème)(en haut,GX100 ; en bas,GX1000)



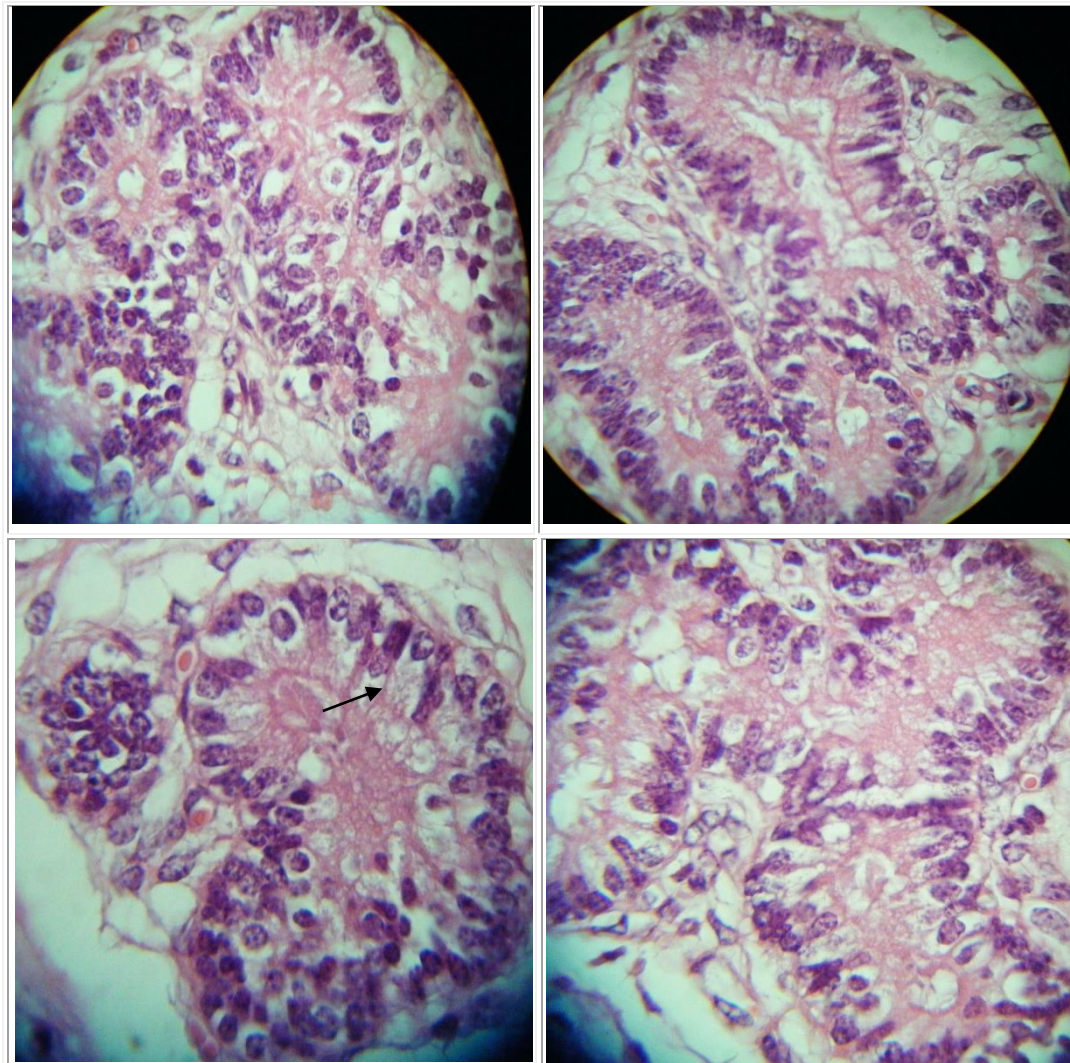
Glandes bien allongées, rectilignes voir ramifiées, → ciliées (GX1000)

Figure 2.20: Aspect histologique de l'utérus en cas de KF



Épithélium pseudostratifié de surface

Glandes bien développées (GX100)



Glandes bien développées, noyaux au pôle basal, —▶microvillosités abondantes en forme de brosse, lumière glandulaire réduite (GX1000)

Figure 2.21 : Aspect histologique de l'utérus en cas de KL

2.3 Discussion

L'étude macroscopique réalisée sur des uteri récupérés au niveau de l'abattoir d'El-Harrach, avait comme objectif, la mise en évidence des anomalies macroscopiques de l'appareil génital pouvant être la ou l'une des causes de la réforme de la vache. Suite à la réalisation de cette étude, nous avons pu mettre en évidence la fréquence des anomalies macroscopiques des appareils génitaux des vaches de la wilaya d'Alger et ses alentours ainsi que la fréquence des vaches gestantes réformées.

Parmi les 2025 appareils génitaux examinés dans notre étude, 16.49% étaient gestants. La majorité des cas de gestation étaient en leur début (moins de 2 mois), quelques cas se trouvaient entre 2 et 7 mois. Concernant les gestations de moins de 2 mois, nous pouvons considérer que ces animaux n'ont pu être diagnostiqués gestants. Dans des études précédentes, Perkins et al. [289], Mylréa [287] et Al-Dahash et David [290] ont rapporté des fréquences relativement élevées qui étaient respectivement 25.5%, 32.1%, 23.36%. Cependant, notre résultat est plus élevé que celui noté par Kaidi [292] (10.27%). La divergence des résultats peut être expliquée par le nombre d'animaux examinés, la durée d'étude et le matériel mis à la disposition des vétérinaires de l'abattoir pour le diagnostic de gestation.

Sur les 1691 tractus génitaux vides examinés dans cette étude macroscopique, 53.28% portaient des anomalies (que se soit au niveau de l'utérus, des oviductes ou des ovaires). Cette fréquence est nettement supérieure à celles trouvées dans la bibliographie, dans laquelle plusieurs auteurs rapportent des fréquences très variées. Elle est de 8.4% pour David et al. [293], 9.78% pour Kaidi [292] et 11.9% pour Perkins et al. [289] dont les études ont été réalisées en Grande Bretagne. Une fréquence très proche de ces dernières a été notée par Drennan et Macpherson [294] au Canada (9%). La fréquence élevée d'anomalies que nous avons notée pourrait être due au nombre élevé d'animaux examinés.

En se basant sur la présence d'une congestion, d'un contenu anormal au niveau des cornes utérines, nous avons pu poser un diagnostic macroscopique d'infection utérine sans différencier l'endométrite de la métrite proprement dite. L'infection utérine a été notée sur 12.47 % des cas non gravides. Cette fréquence est inférieure aux résultats obtenus par Vallet et al. [295] qui ont trouvé 32.9% de cas sur un effectif de 2024 vaches. Des fréquences très basses à la nôtre étaient rapportées par d'autres auteurs, nous citons : Herenda [296] 1.23%, Grohn et al. [208] 2.5% et Hatipoglu et al. [284] 1.26%. Cette divergence de résultats est sûrement due aux facteurs épidémiologiques variés et différents d'une région à une autre, au nombre d'animaux examinés, ainsi qu'au moment et critères de diagnostic sur lesquels ces auteurs se sont basés. Dans certains cas, l'endométrite a été associée avec d'autres lésions inflammatoires dans d'autres parties de l'appareil génital, ce qui est en conformité avec les résultats de McEntee [297] et Hatipoglu et al. [284] qui ont rapporté que les agents infectieux au niveau du vagin pouvant passer par le cervix

et l'utérus causant la cervicite et l'endométrite. Ces cas résultent surtout des mauvaises conditions d'hygiène durant la parturition et le post-partum et de la rétention placentaire qui est la conséquence d'un vêlage dystocique [298].

La fréquence globale des anomalies congénitales est de 0.89%. Elles comportent :

- 12 cas de col double (0.71%) dont les canaux cervicaux s'ouvrent séparément dans l'utérus dans 5 cas (vrai col double) et le reste constitue les faux cols doubles. Ce résultat correspond à celui noté par Hatipoglu et al. [284] (0.18%). Selon Arthur et al. [299], le faux col double peut générer un vêlage dystocique à cause des membres du fœtus qui peuvent rentrer chacun dans un canal cervical.
- 1 cas très rare du col triple (0.06%) qui n'a jamais été mentionné dans la bibliographie.
- L'utérus unicorne est détecté dans 02 cas (0.11%). Généralement, cette anomalie est incluse dans la maladie des génisses blanches.
- 1 cas de malformation au niveau de la corne gauche (obstruction).

La très faible fréquence de ces anomalies est conforme à celles rapportées par d'autres auteurs ; Alam [288] et Kaidi [292].

Le mucomètre représente l'accumulation dans la lumière utérine d'un liquide aseptique fortement visqueux [300]. Il est associé à une lésion anatomique de l'appareil génital (anomalie congénitale, col anormal, long ou tortueux, adhérence, occlusion ou obstruction) ou à une pathologie ovarienne (particulièrement l'ovaire kystique) [301]. Dans cette présente étude, le mucomètre a été trouvé dans 1.18% des cas et a été associé à un col tortueux dans 3 cas et dans le reste aux kystes ovariens.

Le leiomyoma est une tumeur utérine qui a un aspect nodulaire, non invasif, pouvant atteindre 10-12 cm de diamètre et est rapporté chez la vache, la chatte et particulièrement la chienne. Cette tumeur n'est pas incompatible avec une gestation. Histologiquement, elle est constituée par les fibres musculaires lisses avec une disposition anarchique dans le stroma [302]. Dans cette présente étude, 05 cas de leiomyome ont été révélés, soit une fréquence de 0.29%.

L'inflammation de l'oviducte a été retrouvée sur 5.2% des tractus génitaux vides. La présence de signes de l'inflammation (congestion, hypertrophie, exsudat catarrhal) était la base de notre diagnostic. Hatipoglu et al. [303] ont noté une faible fréquence qui était de 0.25%. Il faut signaler que les cas de salpingite auraient pour cause les manipulations de l'ovaire et de l'oviducte par palpation transrectale, l'énucléation du corps jaune, les traitements irritants (irrigation trop importante de l'utérus lors d'une métrite) et les infections ascendantes [48, 304, 303]. Les salpingites peuvent évoluer en hydrosalpinx, pyosalpinx, périmérite, abcès ou adhésion ovaro-bursale.

L'accumulation du pus dans l'oviducte est estimée par une fréquence de 4.26%, sachant qu'elle était associée pour plus de la moitié des cas au pyomètre, ce qui signifie une infection ascendante de l'oviducte [297]. Cette fréquence est élevée par rapport à celle notée par Kessy et Noakes [305] (0.1%).

L'hydrosalpinx est caractérisé par une dilatation uniforme ou partielle de l'oviducte dont le diamètre peut atteindre 10-15 mm, avec une lumière remplie de liquide clair [305]. Dans notre étude, l'hydrosalpinx est noté dans 1.30% des vaches non gravides, fréquence relativement proche à celle rapportée par Kessy et Noakes [305] chez les vaches adultes qui était de 0.3%. Cette lésion est toujours associée à une adhérence ovaro-bursale. Elle est bilatérale dans 1 cas, associée à une dégénérescence macrokystique de l'ovaire. L'adhérence tubero-salpinx est notée dans 1.54% des cas.

L'adhérence ovaro-bursale est une structure constituée par des bandes fibreuses entre la surface de l'ovaire et la bourse ovarique, provoquée par un excès de l'hémorragie folliculaire pendant l'ovulation, un trauma durant l'examen transrectal et une infection de l'utérus [306]. Elle peut empêcher le processus de fertilisation quand les oviductes sont bloqués [45]. Cette anomalie a été rencontrée dans 5.38% des cas. Notre résultat dépasse ceux rapportés par David *et al.* [293], (1.1%) et Roine [307], (2.7%). Une fréquence similaire à la nôtre était notée par Alam [288] (5.62%).

Nous avons considéré comme ovaires petits et lisses, les ovaires des 2 côtés, droit et gauche, qui sont atrophiés, dont la surface ne présente aucune structure et ayant une origine congénitale ou acquise [308]. Nous les avons trouvés sur 33 tractus génitaux, soit une fréquence de 1.95% qui est en conformité à celle

rapportée par David et al. [293], (0.33%), alors qu'elle est nettement inférieure à celle rapportée par El-Marimi [309], (51.20%).

L'examen microscopique effectué sur des fragments de 04 tumeurs ovariennes a indiqué que dans 02 cas, il s'agissait de la tumeur des cellules de la granulosa (TCG), qui est la tumeur ovarienne bovine la plus commune, se trouvant chez les animaux de tout âge [299, 310, 311]. Dans ce travail, cette tumeur est caractérisée par 2 aspects différents. Elle est décrite comme majoritairement unilatérale, lobulée, ovoïde ou sphérique, de consistance variable, présentant à la fois des aires kystiques et tissulaires solides, et habituellement encapsulée et limitée à l'ovaire. Son pouvoir métastatique diffère selon le type histologique ; Les corps de Call Exner se produisent particulièrement dans les tumeurs bénignes [312]. La 3^{ème} tumeur était celle des cellules de Sertoli-Leydig, appelée couramment « Arrhénoblastome ». Selon la bibliographie, aucune donnée n'a été rapportée sur ce type de tumeur chez les bovins dans des études précédentes. Cependant, cette tumeur mixte a été décrite chez la jument, la chatte et la chamelle [441]. L'arrhénoblastome, de même que les TCG, appartiennent au groupe des tumeurs des cordons sexuels et du stroma [312, 441]. La dernière tumeur rencontrée dans notre étude était le cystadénome ovarien. Cette tumeur est comparativement rare chez les mammifères domestiques et est principalement décrite chez la chienne, la truie et la jument [313]. Notre résultat à propos des tumeurs ovariennes est conforme avec celui de Kaidi [292] qui a noté une fréquence des tumeurs de 0.19% et celui de Pérez-Martinez *et al.* [310] qui ont rapporté une fréquence de la TCG de 0.74% sur 1489 vaches réformées. De même, Hatipoglu et al. [303] ont trouvé 03 TCG sur un total de 1113 vaches abattues.

Des ovaires typiquement purulents ont été observés durant notre travail (soit une fréquence de 0.23%). L'aspect blanc-jaunâtre du pus rappelant la nécrose caséuse pathognomonique de la tuberculose dans différentes parties de l'appareil génital nous laisse supposer le diagnostic de la tuberculose dans sa forme génitale. La faible fréquence signalée dans cette présente étude est similaire aux données de la bibliographie [314].

Les kystes parovariens sont des structures kystiques qui se produisent au niveau du ligament large près des ovaires et de l'utérus [45]. Ces kystes peuvent causer par compression, une sténose de la lumière de l'oviducte quand ils sont très larges [288]. Dans cette étude, ils sont notés par une fréquence faible (0.18%) qui est en conformité avec les résultats de certains auteurs [315, 303, 285].

La partie suivante est consacrée à l'étude macroscopique et microscopique des kystes ovariens.

Par définition, le kyste ovarien est une structure folliculaire qui n'a pas ovulé [274] et qui est impliquée dans la réduction de fertilité des vaches laitières [4]. Il est important de noter que nous avons regroupé sous cette pathologie, les follicules kystiques qui ont excédé 2.5 cm de diamètre (à l'exception de l'ovaire microkystique hémorragique). Le KO a été rencontré dans 241 cas (14.25%). Cette fréquence est proche à celles notées par Hanzen [316] 16.5% et El-Marimi [309] 15% sachant qu'elle concorde assez bien avec l'intervalle de référence mentionné dans les différentes études bibliographiques qui est de 10 à 15% [35, 57]. Les légères différences de fréquences sont dues principalement aux méthodes et critères utilisés pour diagnostiquer le KO.

D'après cette présente étude, l'ovaire droit est plus largement atteint par le KO par rapport à l'ovaire gauche, ce qui est conforme aux recherches rapportées par Kaikimi et al. [62]. Dans la plupart des cas, le kyste est unique (84.65%) alors que les ovaires polykystiques sont retrouvés avec une fréquence de 15.35%. La fréquence de ces derniers enregistrée par Silvia et al. [16] dépasse la nôtre et est de 47%. Plus de la moitié des kystes (70.57%) ont des parois minces et sont donc des KF, 29.05% seulement ont une paroi épaisse et sont qualifiés de KL. Cela est conforme avec les données de la littérature [35] et avec le résultat noté par Garverick et Youngquist [43] qui ont rapporté une fréquence de 70% pour le KF et 30% pour le KFL. Un seul cas d'ovaire microkystique hémorragique a été rencontré, soit une fréquence de 0.41%. Une fréquence accrue du kyste ovarien est notée durant la saison chaude (45%) et la saison froide (39%). Ce résultat supporte d'une part les travaux de López-Gatius et al. [173] qui ont rapporté l'influence du stress thermique sur la prise alimentaire à l'origine d'une BEN et par conséquent l'allongement de la période anovulatoire suivant le PP et d'autre part, les résultats

de Baitlesov et al. [235] qui ont associé à l'hiver, le manque d'exercice, de minéraux et de vitamines (plus particulièrement sélénium et vit E), ce qui favorise l'apparition des KO.

La classification commune des kystes en –Folliculaire- et –lutéal- est basée sur la concentration en œstrogènes et en P4 du sérum ou du liquide kystique [85]. Dans cette présente étude, la classification des kystes est basée à la fois, sur l'étude histologique et sur le dosage des hormones stéroïdiennes (ce dernier va être développé ultérieurement). L'observation microscopique des changements morphologiques des parois kystiques nous a permis de rapporter qu'un kyste jeune (en début de formation ou KF) est caractérisé par une disparition graduelle des cellules de la granulosa, sachant que les cellules restantes préservent leur apparence morphologique. Les cellules thécales sont hypertrophiées, perdant leur arrangement caractéristique parallèle à la lame basale. Le type 2 (le kyste lutéal) est caractérisé par la lutéinisation des cellules et l'absence de la lame basale [85, 10]. Dans notre résultat, 156 kystes observés appartiennent au 1^{er} type (soit une fréquence de 64.73 %) et 84 présentent les caractéristiques du KL. Notre résultat (KF=64.73% ; KL=34.85%) n'est pas conforme avec celui de Braw-Tal et al. [85] qui ont trouvé dans une étude similaire à la nôtre, des fréquences de KF et KL respectives de 25.55% et 38.88% sur un total de 90 KO, bien qu'il soit en accord avec les données de la bibliographie qui rappellent que les KF sont plus communs que les KL [35]. Les variations sont dues aux critères et méthodes de diagnostic des KO et au nombre de kystes étudiés qui sont différents à les nôtres.

Les coupes histologiques des uteri de vaches atteintes de KO ont été réalisées dans le but de déterminer la correspondance des changements dans l'endomètre avec les variations des concentration des hormones ovariennes sachant que théoriquement, le KF est caractérisé par un taux d'œstrogènes élevé et le KL par un taux de P4 élevé. Dans le cas physiologique, le cycle utérin reflète le cycle ovarien et concerne tous les composants de la couche fonctionnelle –soit l'épithélium de surface, les glandes, le stroma et les vaisseaux sanguins [317]. La phase folliculaire se caractérise surtout par les phénomènes congestifs, hypertrophiques et sécrétoires [318]. Le taux élevé des œstrogènes permet une croissance rapide de la couche fonctionnelle et la sécrétion du mucus. La congestion vasculaire, l'œdème et l'hémorragie sont à leur pic. Durant la phase

lutéale (taux de P4 élevé), l'hyperplasie glandulaire atteint son maximum. Les glandes tubulaires deviennent enroulées avec une lumière réduite et l'organisation cellulaire est marquée par des noyaux de forme oblongue, situés au pôle basal. Les microvillosités sont alors abondantes et en forme de brosse. Si la fertilisation se produit, cette activité se continue, sinon, les glandes et les tissus vasculaires vont dégénérer avec la dégénérescence concomitante du corps jaune (et la chute du taux de P4) à la fin de cette phase [318, 319].

D'après notre étude, une nette corrélation est relevée lors de l'observation des lames histologiques des uteri de vaches atteintes de KO et les modifications notées sur ces uteri suivent les changements des concentrations des hormones ovariennes (œstrogènes et progestérone).

CONCLUSION

L'interprétation des résultats obtenus suite à l'étude macroscopique que nous avons réalisée sur des appareils génitaux récupérés à l'abattoir, nous a permis de constater :

- Une fréquence élevée des femelles gestantes réformées et abattues. La grande majorité de ces gestations étaient à leur début.
- Que parmi les anomalies de la reproduction, l'incidence du KO s'avère la plus importante suivie de celle de l'infection utérine, ce qui montre que les conditions de contamination et de l'installation d'une infection utérine sont toujours présentes dans nos étables et que l'utilisation anarchique des traitements de synchronisation et/ou d'induction des chaleurs et la sous/alimentation seraient probablement les causes des cas de KO rencontrés dans notre travail.
- Que la plupart des KO sont uniques et sont notés sur l'ovaire droit. De même, l'été et l'hiver peuvent favoriser l'apparition des KO.

L'examen microscopique des lames préparées à partir des prélèvements kystiques nous a permis d'obtenir les réelles fréquences du type du KO. Donc, l'observation microscopique des parois kystiques constitue le meilleur moyen pour diagnostiquer les KO en post-mortem car il permet non seulement de classer les KO mais aussi de connaître le stade de développement de ces derniers. Cependant,

le recours à l'échographie en clinique afin de confirmer la présence du tissu lutéal au sein du KO s'avère très intéressant.

CHAPITRE 3
PROFIL IMMUNOHISTOCHIMIQUE, METABOLIQUE & HORMONAL
DES KYSTES OVARIENS

CHAPITRE 3

PROFIL IMMUNOHISTOCHIMIQUE, METABOLIQUE & HORMONAL DES KYSTES OVARIENS

La présence du liquide folliculaire (LF) chez plusieurs espèces témoigne son importance potentielle dans la physiologie ovarienne [320]. Sa composition reflète les changements des processus sécrétoires de la granulosa et de la thèque interne, et les changements des composants du plasma dus soit à un processus physiologique ou pathologique influençant ainsi le fonctionnement ovarien notamment la stéroïdogénèse, le développement folliculaire, la formation et la fonction du corps jaune [321, 322]. Chez la vache, la composition du LF varie considérablement avec la phase du cycle, la taille et le statut du follicule [322]. A cet effet, plusieurs études ont rapporté les différentes concentrations de ce liquide en hormones stéroïdiennes (E2, P4 et testostérone) et sa composition biochimique [320, 323]. Cependant, les résultats concernant la composition de ce fluide dans le cas du kyste ovarien demeurent faibles du moment que l'étiologie et la pathogénie du KO ont été le sujet de nombreuses hypothèses depuis le milieu du 19^{ème} siècle et ils ne sont pas complètement clarifiés aussi bien chez l'Homme que chez l'animal jusqu'à ce jour [7, 16, 35, 324, 325].

De ce fait, afin de contribuer à la compréhension de la pathologie kystique chez la vache, nous avons tracé le 1^{er} but de ce travail qui est de déterminer les profils hormonal et métabolique du liquide folliculaire et kystique. Le second objectif est d'identifier et de caractériser par immunohistochimie, la localisation cellulaire spécifique de certains facteurs (VEGF - Bcl2- vimentine- inhibine α -Bax-Cycline D1) qui peuvent être impliqués dans la formation et/ou la persistance du KO afin de gagner plus de perspicacité dans la pathogénie de celui-ci.

3.1 Matériels et méthodes

3.1.1 Collecte des ovaires

La méthode et la période de collecte des ovaires sont décrites précédemment. Dans ce travail, plus de 300 ovaires ont fait l'objet de notre étude. Tout follicule dépassant 2.5 cm, en absence d'une structure lutéale est considéré kystique, confirmé également par l'étude histologique.

3.1.2 Aspiration des liquides folliculaires

Après la prise des diamètres, les follicules sont divisés en : Larges (10-17 mm) et kystiques (≥ 25 mm). Les liquides folliculaires ont été prélevés de 120 follicules larges et de 195 follicules kystiques (provenant de 115 KF et 80 KL). Cette aspiration est réalisée minutieusement à l'aide d'une seringue stérile avec aiguille, de 10 ml, changée après chaque utilisation. Les liquides sont centrifugés à 2000 tours/mn pendant 15 mn pour éliminer les débris cellulaires, mis dans des tubes secs et conservés à -20°C au laboratoire d'anatomie-pathologique de l'ENSV pour des analyses ultérieures.

3.1.3 Analyses biochimiques

Les liquides folliculaires et kystiques sont utilisés pour l'analyse des différents paramètres biochimiques (glucose, protéines totales, triglycérides, ASAT, ALAT, PAL, GGT, bilirubine totale, urée, créatinine et cholestérol total), à l'aide du multianalyseur Architect plus, ci 4100 (Architect c Systems, Abott Diagnostics, Allemagne) (Figure 3.1), au niveau d'un laboratoire d'analyses médicales privé à Alger. Toutes ces analyses sont réalisées selon les instructions du manufacturier. Les informations décrivant le principe de chaque méthode, ainsi que la référence du kit utilisé sont illustrées en annexe 3.



Figure 3.1 : Automate Architect plus ci 4100- ABBOTT

3.1.4 Analyses hormonales

Les concentrations des hormones stéroïdiennes (progestérone et oestradiol-17 β) ont été analysées par la technique radio-immunologique au niveau du Centre de Recherche Nucléaire de Draria [350]. Les kits de dosage ont été fournis par Immunotech (A Beckman Coulter Company, France). La sensibilité, les coefficients de variation intra et inter-essais sont respectivement : < 6 pg/ml, $\leq 12.1\%$ et $\leq 11.2\%$ pour l'E2 ; 0.05 ng/ml, $\leq 6.5\%$ et $\leq 7.2\%$ pour la P4. Toutes les données concernant les kits, le matériel nécessaire pour le dosage et la procédure (mode opératoire) sont regroupées en annexe 4. Il faut signaler qu'au cours de la réalisation de ce dosage, nous avons profité d'analyser le liquide contenu dans 03 tumeurs ovariennes (02 TCG et 01 cystadénome ovarien).

Les concentrations de l'insuline et du cortisol dans les liquides kystiques et folliculaires étaient déterminées dans l'analyseur Cobas e 411 par immunodosage (par compétition pour le cortisol et par le principe Sandwich pour l'insuline) utilisant la technologie de l'électrochimiluminescence [144] (Annexe 5). La limite minimale de détection est de 0.5 nmol/l pour le cortisol et de 0.2 μ U/ml pour l'insuline. Les informations relatives aux kits utilisés pour le dosage de ces 02 hormones métaboliques sont présentées en annexe 6.

3.1.5 Immunohistochimie

L'immunohistochimie a été réalisée au service d'anatomie-pathologique des CHU Mustapha Bacha et Douira. Tous les détails indiquant la source, l'origine et les concentrations des anticorps (anti VEGF-Bcl2-vimentine-inhibine α -Bax-Cycline D1) utilisés dans cette technique sont regroupés dans le tableau 3.1. Chaque anticorps est essayé sur 3 fragments du même ovaire au minimum. La méthode streptavidine-biotine peroxydase standard est appliquée telle était décrite précédemment [326, 327]. Cette méthode consiste en une série d'étapes qui viennent d'être élucidées.

Tableau 3.1 : Source, type et dilution des anticorps utilisés dans l'analyse immunohistochimique

Anticorps/Isotype IgG1 kappa	Type	Dilution	Code	Clone	Source
Vimentine	Monoclonal souris	1 :50 - 1 :100	M 0725	V9	DAKO, Danemark (2011)
RP	Monoclonal souris	1:50	M 3569	PgR 636	DAKO, Danemark (2011)
RE α	Monoclonal lapin	-	IR 084	EP1	DAKO, Danemark (2011)
VEGF	Monoclonal souris	1 :20 – 1 :40	Mob 308	VG1	Diagnostic BioSystems, CA, USA (2011)
BcL2	Monoclonal souris	1 :50-1 :100	M0887	124	DAKO, Danemark (2011)
Inhibine α	Monoclonal souris	1:50	3609	R1	DAKO, Danemark (2011)
Bax	Polyclonal lapin	1 :1500	A3533	-	DAKO, Danemark (2011)
Cycline D1	Monoclonal lapin	1 :100	M3642	EP12	DAKO, Danemark (2011)

a/ Principe et domaine d'application de l'immunohistochimie

L'IHC est une technique qui permet la détection au niveau des cellules ou des tissus d'un antigène protéique qu'il soit cytoplasmique, membranaire ou nucléaire, spécifique pour un type ou une fonction cellulaire, par visualisation d'un complexe antigène anticorps à l'aide d'un marqueur coloré (fluorescent ou enzymatique) [328, 329]. Le domaine d'application est très vaste en Anatomie et Cytologie pathologique étudiant les tissus présentant des altérations lésionnelles. Utilisée de façon journalière dans les laboratoires, cette technique connaît un développement accru

par l'apparition des méthodes de démasquage antigénique, la commercialisation de nombreux anticorps et de systèmes d'amplifications de plus en plus performants, permettant de révéler de beaucoup plus faibles quantités d'antigènes [328].

b/ Nature des prélèvements de l'immunohistochimie

Dans ce travail, 40 ovaires ont été sélectionnés à partir de prélèvements provenant de l'abattoir d'El-Harrach et menés ensuite aux laboratoires d'anatomie pathologique du CHU Mustapha-Bacha et Douira : Plus de la moitié de ces ovaires (au nombre de 24) présentent des kystes ovariens (>25mm) dont 12 sont des KF et le reste correspond à des kystes lutéaux tandis que les autres ovaires (n=16) montrent des follicules larges dont le diamètre se situe entre 10-17mm et dont l'intégrité est confirmée par le dosage de la P4 et des E2 [167].

c/ Fixation, inclusion en paraffine et coupe

Les prélèvements ont été fixés dans du formol à 10%, tamponnés à la neutralité, pendant 24 heures ou plus et inclus en paraffine. Des coupes sériées de 2 micromètres d'épaisseur sont réalisées à l'aide d'un microtome et après, récupérées en milieu liquide (bain-marie à 40°C), étalées sur des lames silanisées, puis séchées à l'étuve à 56°C pendant 12 heures.

d/ Coloration à l'Hémalun-Eosine

Pour chaque prélèvement, une des coupes a été colorée à l'Hémalun-Eosine afin d'établir le type histologique exact du KO.

e/ Etude immunohistochimique

- Déparaffinage : les lames sont déparaffinées dans quatre bains successifs de xylène (4 fois pendant 5 minutes) puis réhydratées dans deux bains successifs d'acétone (2 fois pendant 5 minutes) et dans de l'eau distillée.

- Démasquage antigénique : afin de restaurer l'antigénicité de certains des épitopes et enlever l'excès du formol, nous avons utilisé la technique de démasquage antigénique classique à l'aide d'un four à micro-ondes. En fait, 02 passages (de 40 mn chacun) avec une température de 95°C et 98°C, respectivement, sont effectués avec des PH différents (PH 9 et 6, respectivement). Puis, les lames sont refroidies pendant 30 minutes à température ambiante et rincées à l'eau distillée.

- Cerclage des coupes au stylo DakoPen (Dako SA, Trappes, France).

f/ Réaction immunohistochimique

- Inhibition de la peroxydase endogène: l'activité peroxydase endogène est inhibée pour faciliter la pénétration de l'AC par incubation des coupes dans une solution de méthanol à 1% de peroxyde d'hydrogène (30 Volumes) pendant 30 minutes. Ce mélange a été préparé au moment de l'utilisation.
- Equilibration de l'osmolarité dans du Tampon Phosphate Salin (PBS) dilué au 1/10ème avec 0.2 g de lait écrémé en poudre à dilution instantanée avec deux gouttes de Tween 20 par litre (P7949, Sigma-Aldrich, St Quentin Fallavier, France).
- Blocage de la fixation non spécifique des anticorps: sérum normal de chèvre dilué au 1/5ème dans du PBS dilué au 1/10ème pendant 20 minutes.
- Anticorps primaires: les anticorps primaires sont appliqués aux dilutions indiquées dans la fiche technique du produit pendant 1 heure. Ensuite, on effectue quatre rinçages de 5 minutes avec du PBS.
- Anticorps secondaire est appliqué pendant 30 minutes. Puis, on rince trois fois pendant 5 minutes dans du PBS.
- Application du complexe streptavidine-biotine-peroxydase (K0492, Dako, France) dilué au 1/100ème dans du PBS albuminé pendant 30 minutes. Puis, on rince trois fois, 5 minutes dans du PBS.
- Révélation de l'activité peroxydase par application du chromogène 3,3'-diaminobenzidine tétrahydrochloride pendant 15 à 20 minutes (M-4293, Sigma-Aldrich, France). Puis, on rince à l'eau courante. Ce chromogène est oxydé par la peroxydase et donne un précipité brun insoluble dans l'eau et les solvants organiques.
- Contre-coloration avec l'Hématoxiline de Harris (1.09253.0500, Merck, France), pendant 15 secondes. Les noyaux bleuissent à l'eau courante pendant 5 minutes, puis, déshydratation.
- Montage avec lamelles dans un baume synthétique (Micromount mounting medium, Labonord, France). Toutes les incubations sont effectuées à température ambiante.

A noter que dans le but de démontrer si le marquage positif observé est spécifique, différents contrôles négatifs sont réalisés pour chaque prélèvement en remplaçant l'anticorps primaire par le sérum normal de souris ou de lapin (les contrôles négatifs sont fournis par DAKO, Danemark).

g/ Analyse des images

La lecture et l'interprétation des lames ont été faites au niveau des laboratoires de l'anatomie pathologique des CHU Mustapha BACHA et Douira.

Les images ont été prises par un appareil photo numérique (Leica EC3, Singapore) doté d'une haute résolution 3.1 mégapixels et d'un zoom optique 0.55x, monté sur un microscope optique conventionnel (Leica Microsystems, DM 1000, Suisse). La EC3 se connecte facilement à tous les ordinateurs munis d'un **port USB2**, ce qui permet le réglage et la mise au point d'images sur l'écran d'ordinateur (Figure 3.2). Brièvement, les surfaces nucléaires positives (le produit de réaction brun) ont été mesurées et exprimées par rapport (%) à la surface totale des noyaux de cellules (brun + bleu hématoxyline). Les points d'analyse des images ont été calculés séparément dans chaque paroi folliculaire (granulosa, thèques interne et externe) de plus de 40 structures ovariennes : KO et follicules larges.



Figure 3.2 : Microscope optique avec caméra numérique intégrée
Service d'Anatomie Pathologique, CHU Douira, Alger

A partir des lames traitées par immunohistochimie ont été notés :

- la distribution cellulaire du marquage (cytoplasmique et/ou nucléaire),
- la proportion de cellules marquées (estimation semi-quantitative) :

Marquage + => < 10% cellules positives ;

Marquage ++ => > 10% mais <50% cellules positives;

Marquage +++ => 50% cellules positives mais < 90% cellules positives

Marquage ++++ => 90% cellules positives;

Marquage - => aucune cellule positive.

3.1.6 Analyses statistiques

Les données relatives aux analyses biochimiques et hormonales ont été saisies, au fur et à mesure de l'étude, à l'aide d'un système de gestion de base de données (Microsoft Excel 2013). Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne \pm écart type. L'analyse statistique a été menée grâce au logiciel STATISTICA (Version 10, Stat Soft France, 2003). Les différences statistiques dans les concentrations des paramètres biochimiques et hormonaux entre les kystes ovariens et les follicules larges ont été comparées au moyen du test Z. Le seuil de signification retenu était de 5% (la différence était significative si $P < 0.05$).

3.2 Résultats

3.2.1 Profil métabolique des liquides folliculaires et kystiques

Les concentrations moyennes des différents constituants métaboliques contenus dans les liquides folliculaires et kystiques sont représentées dans le tableau 3.2. Les valeurs usuelles de ces paramètres rapportées et/ou établies dans des études précédentes sont mentionnées pour mieux interpréter les résultats [330^a, 331^b, 323^c, 242^d, 332^e, 333^f, 334^g, 17^h, 335ⁱ, 336^j, 337^k, 322^l, 338^m, 339ⁿ, 340^o].

Tableau 3.2 : Concentrations des différents paramètres biochimiques dans le liquide folliculaire et kystique chez la vache (moyenne \pm écart type)

	FL (n=78)	KO (n=78)	Intervalle de références
Glucose (g/l)	0.44 \pm 0.13	0.21 \pm 0.13 ***	0.4 - 0.7 c, f, h, m
Insuline (μUI/ml)	0.8 \pm 0.37	0.77 \pm 0.41 ns	0 - 5 a, o
Protéines totales (g/l)	71.19 \pm 5.2	62.1 \pm 5.81 ***	64 - 87 c, d, e, i, m
Albumine (g/l)	32.85 \pm 4.75	30.28 \pm 2.65 ns	25.5 - 47 e, i, l, m
TG (mmol/l)	0.15 \pm 0.03	0.14 \pm 0.04 ns	0.14 - 0.25 c, e, i, j, m
ASAT (U/l)	127.78 \pm 23.5	123.79 \pm 28.89 ns	78 - 154 g, i, j
ALAT (U/l)	46.28 \pm 19.44	44.98 \pm 30.75 ns	11 - 85.50 g, i
GGT (U/l)	18.92 \pm 4.32	20.09 \pm 3.52 ns	17 - 24.1 e, j
BRT (μmol/l)	3.44 \pm 1.35	3.34 \pm 1.41 ns	0.17 - 8.55 e, g
PAL (U/l)	129.96 \pm 36.79	132.77 \pm 39.04 ns	109 - 177.33 i, j, k
Cortisol (nmol/l)	27.35 \pm 9.32	13.05 \pm 7.04 ***	33 - 55 b
Chol (mmol/l)	1.8 \pm 5.19	0.62 \pm 0.18 *	1.04 - 1.93 c, e, i, j
Urée (mmol/l)	4.1 \pm 1.2	6.25 \pm 0.6 ***	4.13 - 6.05 c, l, n
Créatinine (μmol/l)	117.74 \pm 105.56	116.24 ns	103 - 155 e, i, k

TG: triglycérides, BRT: bilirubine totale, PAL: Phosphatases Alcalines, Chol: cholestérol total, ASAT: Aspartate Amino Transférase, ALAT: Alanine Amino Transférase, GGT: Gamma Glutamyl Transpeptidase.

Valeurs P: ns : non significatif ; *** : hautement significatif ; * : significatif.

D'après le tableau ci-dessus, les taux de glucose, des protéines totales, du cholestérol total et de cortisol sont significativement plus élevés dans les follicules

larges que dans les follicules kystiques. En revanche, ces derniers présentent des concentrations plus élevées en urée ($P < 0.001$). Cependant, la différence des taux des autres constituants (Insuline, TG, albumine, créatinine, BRT, GGT, ASAT, ALAT et PAL) n'est pas significative ($P > 0.05$). Il faut rappeler que les concentrations des différents métabolites n'ont pas différencié entre les KF et les KL.

3.2.2 Profil hormonal des liquides folliculaires et kystiques

Les taux moyens des stéroïdes majeurs (E2 et P4) contenus dans les liquides folliculaires et kystiques ainsi que dans les tumeurs ovariennes sont représentés dans les tableaux 3.3 et 3.4, respectivement.

Tableau 3.3 : Concentrations moyennes des stéroïdes majeurs dans les liquides folliculaires et kystiques (moyenne \pm écart type)

structure	17 β-Œstradiol (pg/ml)	Progestérone (ng/ml)
FL (n=120)	10937.63 \pm 87.5	74.4 \pm 8.3
KF (n=115)	10690.66 \pm 76.69	89.32 \pm 9.14
KL (n=80)	105.32 \pm 16.22	139.26 \pm 13.8
P	< 0.001	< 0.001

D'après les résultats du dosage hormonal présentés dans ce tableau, nous constatons que les follicules larges (FL) et les kystes folliculaires sont caractérisés par un taux élevé d'E2. De même, ces derniers montrent des concentrations plus ou moins considérables en progestérone. Quant aux kystes lutéaux, ils ont des taux élevés en P4 et faibles en E2.

Tableau 3.4 : Taux des stéroïdes dans le liquide contenu dans les tumeurs ovariennes

Tumeur	17 β -Œstradiol (pg/ml)	Progestérone (ng/ml)
TCG 1	16	77.78
TCG 2	15.32	120
Cystadénome ovarien	< 3.26	32.11
P	< 0.001	< 0.001

L'analyse hormonale du liquide contenu dans les tumeurs ovariennes montre que la TCG 2 (qui montre l'aspect cribriforme) présente un taux très élevé en P4, suivi par la TCG1 qui a des foyers nécrotiques et hémorragiques ($p < 0.001$). Le taux d'E2 est relativement faible dans ces 02 tumeurs ($p > 0.05$). En revanche, le cystadénome s'avère fonctionnellement progestérone- et œstrogènes-inactif (les niveaux de P4 et E2 sont relativement faibles) ($P < 0.001$).

3.2.3 Immunohistochimie

Aucun marquage n'a été décelé sur les sections tissulaires servant de contrôle négatif.

L'expression immunohistochimique des différents anticorps est élucidée dans le tableau 3.5.

Tableau 3.5 : Distribution de l'immunomarquage au niveau de la paroi des FL et des KO

Facteur	FL	KF	KL
Vimentine			
CG	++	++++	
TI	-	+++	/
TE	-	+++	
VEGF			
CG	+	++	
TI	+	++	+

TE	+	++	
Inhibine α			
CG	++	+++	
TI	-	+	-
TE	-	+	
BcL2			
CG	+++	++	
TI		+	-
TE	+	+	
	+		
BAX			
CG	-	-	
TI	-	-	-
TE	-	-	
Cycline D1			
CG	-	-	
TI	-	-	-
TE	-	-	

CG : cellules de la granulosa ; TI : thèque interne ; TE : thèque externe

***Vimentine**

La figure 3.3 montre une intense immuno-réactivité à la vimentine des cellules de la granulosa du KF par rapport au FL. L'intensité de l'expression de ce facteur diminue légèrement dans les cellules de la thèque interne et externe alors que les mêmes couches du FL n'expriment pas la vimentine. Les vaisseaux et le stroma du KF sont aussi positifs à la vimentine.

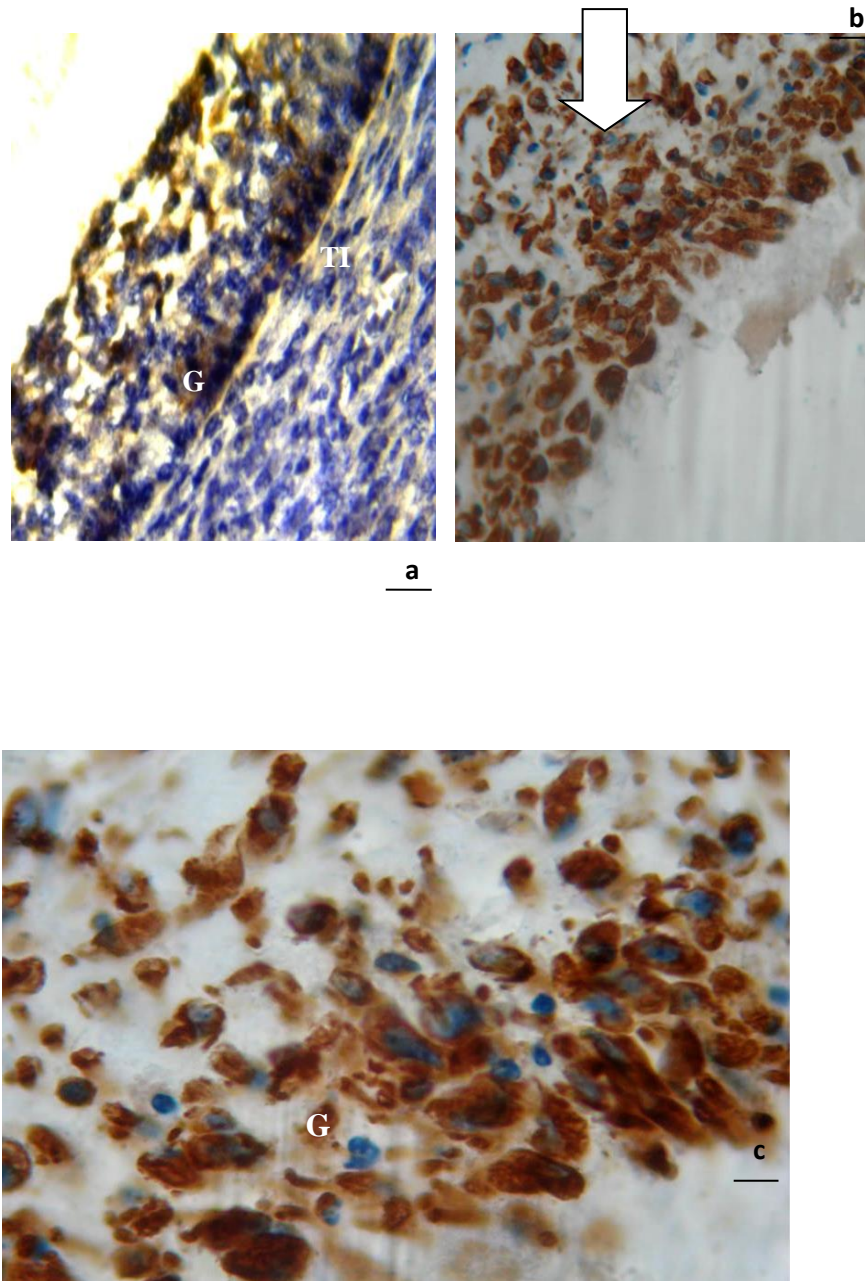


Figure 3.3 : Expression immunohistochimique à l'anticorps anti-vimentine (a) FL, (b) et (c) KF. Marquage cytoplasmique très intense dans la granulosa (G) du KF. (a) & (b): Echelle=20 μ m, (c): Echelle=10 μ m

*Inhibine α

L'inhibine α a été exprimée uniquement dans les cellules de la granulosa du FL. L'immunomarquage est plus intense dans les cellules granuleuses du KF. Une très

faible expression est marquée dans les cellules des thèques interne et externe. Ce facteur n'est pas exprimé dans les parois du KL (Figure 3.4).

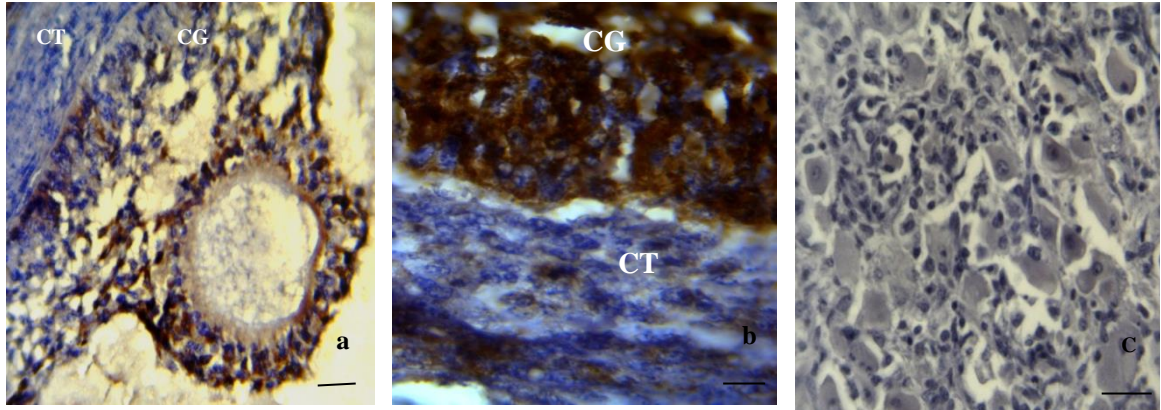


Figure 3.4 : Expression immunohistochimique à l'anticorps anti-inhibine α (a) FL, (b) KF, (c) KL. Marquage cytoplasmique intense dans la granulosa (G) du KF. Echelle=20 μ m.

***VEGF**

Concernant le VEGF, une expression cytoplasmique d'intensité modérée est marquée dans les cellules de la granulosa et de la thèque interne du FL. L'intensité de l'expression de cet élément augmente dans les parois du KF. Dans le KL, une positivité cytoplasmique d'intensité faible et focale est notée dans les cellules lutéinisées (Figure 3.5).

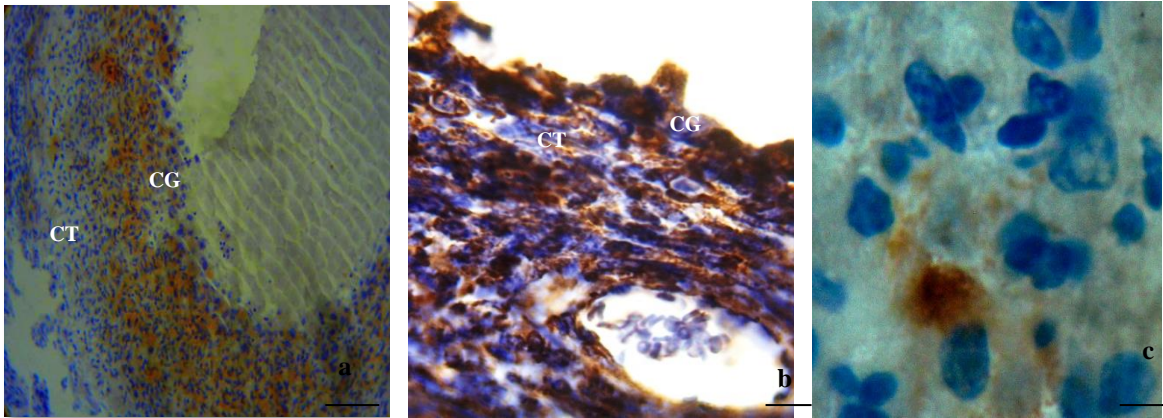


Figure 3.5 : Expression immunohistochimique à l'anticorps anti-VEGF
 (a) FL, (b) KF, (c) KL. Positivité cytoplasmique remarquable dans les parois du KF, modérée dans les cellules du FL et faible, focale dans les cellules lutéales du KL.
 (a) : Echelle=40 μ m ; (b) : Echelle=20 μ m ; (c) : Echelle= 5 μ m.

***Bcl2**

Les cellules de la granulosa du FL et du KF montrent une expression cytoplasmique intense du Bcl2. En revanche, l'intensité diminue dans les cellules des thèques de ces 02 structures. Aucune expression de ce facteur n'a été marquée dans les parois du KL (Figure 3.6).

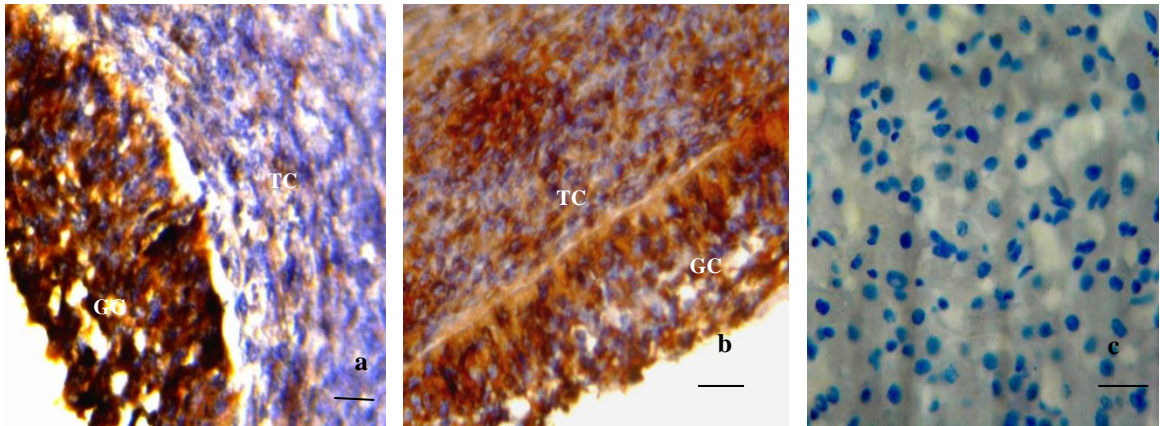


Figure 3.6 : Expression immunohistochimique à l'anticorps anti-Bcl2 (a) FL, (b) KF, (c) KL. Positivité intense dans les parois du FL et du KF. Echelle=20 μ m.

***Cycline D1 et BAX**

Aucune expression n'a été décelée pour les facteurs BAX et Cycline D1 que se soit dans le FL, le KF ou le KL (Figure 3.7).

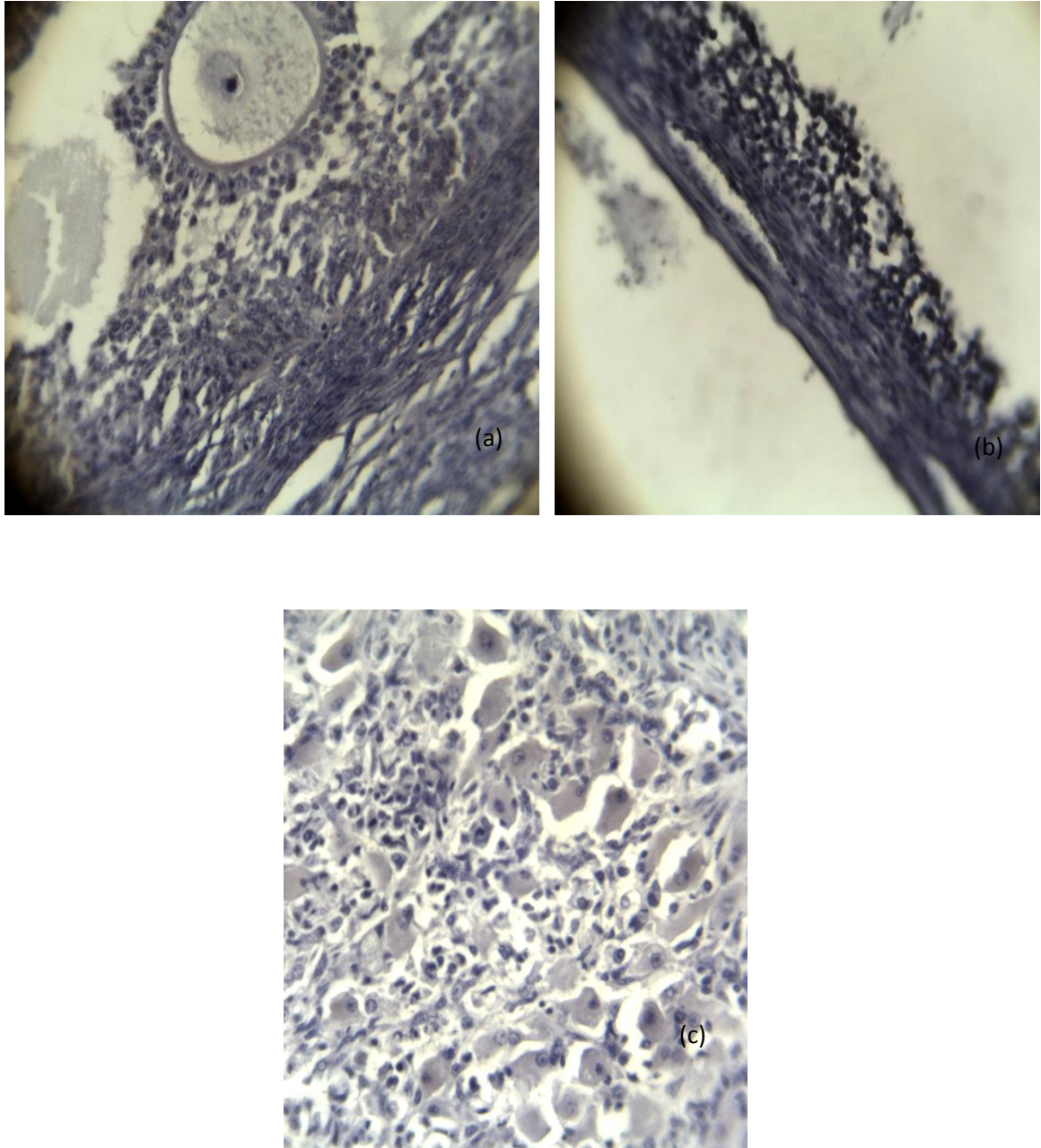


Figure 3.7 : Expression immunohistochimique à l'anticorps anti-Bax et anti-cyclineD 1
(a) FL, (b) KF, (c) KL. Marquage négatif dans les parois du FL, du KF et du KL.

3.3 Discussion

“Pourquoi et comment les ovaires deviennent kystiques ?” a été le sujet de recherches considérables et des études méticuleuses avec différentes approches. Cependant, les mécanismes par lesquels ils se développent sont encore peu élucidés [327]. En effet, il est bien connu qu’une croissance folliculaire normale exige un équilibre précis entre divers facteurs endocrine, paracrine et autocrine [341, 342]. Tout changement dans cet équilibre parfait peut causer des désordres menant aux conditions pathologiques comprenant la formation des kystes ovariens [17].

L’hypothèse la plus admise concernant la formation du KO est l’état réfractaire de l’hypothalamus vis-à-vis le feed-back positif des œstrogènes pour la libération de LH [271, 16]. En effet, plusieurs études ont montré que des taux de P4 élevés peuvent être responsables de cet état [16, 150]. Dans cette présente étude, la présence d’une concentration considérable de progestérone dans les kystes folliculaires peut confirmer le fait qu’un excès de progestérone empêche la décharge préovulatoire de LH même en présence des concentrations physiologiques normales d’estradiol ayant pour résultat la persistance des follicules en tant que structures kystiques. A un stade plus avancé (KL) et avec la lutéinisation des parois kystiques, les taux d’E2 diminuent dans le liquide folliculaire alors que les niveaux de la P4 sont très élevés. Ces résultats sont en conformité avec ceux de Braw-Tall et al. [85] et Khan et al. [17, 247]. Ces derniers auteurs ont rapporté que l’augmentation anormale du taux de P4 dans les kystes folliculaires peut être liée à une réduction de l’activité aromatase qui est responsable de la conversion de la P4 en E2 [17].

Parallèlement aux KO, les vaches atteintes des TCG suivent pratiquement les mêmes phases de la maladie : nymphomanie-anoestrus-virilisme, selon le degré de lutéinisation de la tumeur et l’hormone stéroïdienne dominante. L’analyse hormonale du liquide contenu dans les 03 tumeurs ovariennes montre que les TCG, contrairement au cystadénome, sont fonctionnellement actives, en accord avec les résultats de Pérez-Martinez et al. [310] qui ont rapporté que la plupart des TCG produisent des stéroïdes. Malheureusement, notre résultat ne permet pas de poser un diagnostic sur le comportement des vaches atteintes des tumeurs et réformées

en absence d'historique et aussi d'autres dosages (principalement la testostérone qui est très importante dans ces cas) [343].

Le glucose constitue la majorité des carbohydrates du liquide folliculaire, et représente donc la principale source d'énergie pour l'ovaire qui peut le métaboliser par voie anaérobie, conduisant à la formation du lactate [323, 333, 241]. Quoique le rôle exact du glucose dans le fonctionnement des parois folliculaires ne soit pas bien élucidé, les études confirment son importance dans le développement, l'ovulation, la formation et le maintien du corps jaune [333]. Dans notre étude, la concentration du glucose dans le follicule large était significativement plus élevée comparée à celle des KO. Ces résultats sont conformes avec d'autres études chez les bovins [85] alors que chez les camelins, Ghoneim et al. [344] n'ont pas noté un résultat similaire. La divergence des résultats peut être expliquée par l'espèce, le statut nutritionnel de l'animal et surtout le degré des changements autolytiques caractérisant le post-mortem. Le niveau faible du glucose dans le LK nous laisse supposer un stress métabolique, caractérisant ainsi le postpartum surtout chez les vaches laitières hautes productrices, ce qui mène à la formation du kyste plutôt qu'à l'atrésie folliculaire (malgré qu'on ignore l'historique des vaches réformées à l'abattoir). L'hypertrophie des cellules de la thèque interne notée dans notre étude histologique témoigne l'épuisement cellulaire. Un tel épuisement peut se produire lors de l'incapacité de la cellule à maintenir l'homéostasie normale [85]. De plus, les taux faibles du glucose mènent à la dépression des fonctions hypothalamiques causant la détérioration de l'activité ovarienne ce qui empêche la libération des gonadotropines [345]. Diskin et al. [346] ont rapporté que le glucose est fortement impliqué dans la libération de la LH, ce qui reflète son rôle dans le contrôle de l'activité de la GnRH comme étant un important signal métabolique.

L'insuline, de même que l'IGF1 sont impliqués dans la régulation de la fonction ovarienne [347, 348]. Tandis que l'IGF1 est indispensable pour le développement folliculaire, l'insuline, en augmentant le taux d'œstrogènes, stimule la maturation finale du follicule dominant qui mène à la décharge de LH et l'ovulation [349, 85]. Ces 02 hormones peuvent aussi augmenter la sensibilité aux gonadotropines LH et FSH. Des concentrations faibles d'insuline et d'IGF1 notées chez les vaches laitières en postpartum empêchent probablement la reprise de la cyclicité à l'origine de la persistance des follicules et la formation du KO [181, 2, 350]. Dans notre

étude, les taux d'insuline similaires dans les liquides folliculaire et kystique nous laissent supposer le rôle actif de l'IGF1 dans ce processus, en accord avec les résultats de Hein et al. [340] qui ont enregistré des taux identiques d'insuline et dans des études précédentes, des taux faibles de l'IGF1 chez des vaches kystiques [2, 340]. Cependant, d'autres travaux ont indiqué des niveaux élevés de l'IGF1 dans le cas du KO [12], alors que d'autres ont rapporté des quantités faibles en insuline et IGF1 dans les liquides kystiques chez les vaches laitières [85] et chez les buffles [17].

Les protéines sont présentes dans toutes les cellules vivantes où elles sont intimement associées à de diverses phases de l'activité qui constituent la vie d'une cellule. Un déséquilibre en protéines peut affecter le métabolisme et le statut d'énergie de l'animal [345]. Dans l'ovaire des mammifères, le LF contient diverses protéines qui jouent un rôle important dans la croissance, la maturation et l'ovulation du follicule [351, 240]. Le niveau de ces protéines est relativement uniforme durant toutes les étapes du développement folliculaire [323, 352, 353, 345]. Dans ce travail, les taux en protéines totales dans le liquide kystique sont significativement inférieurs à ceux notés dans le liquide folliculaire, quoiqu'ils restent en général dans les normes admises dans les différentes études [323, 335, 336, 337, 354, 338]. Ce résultat est conforme avec celui de Maniwa et al. [242] chez la vache et diffère de celui de Khan et al. [17] chez les buffles. La différence des résultats peut être attribuée aux facteurs cités auparavant.

L'albumine joue un rôle essentiel dans le développement d'une pression colloïdale qui augmente la viscosité du liquide folliculaire. Il a été supposé que cette protéine peut augmenter la pression osmotique et les mouvements des solvants, à l'origine de la baisse de sa concentration dans les grands follicules [322, 338]. De plus, il est généralement reconnu que l'albumine possède une corrélation positive avec les performances de production et de reproduction. Cette relation est associée avec la fonction hépatique. En effet, un taux faible d'albumine est lié à une diminution de l'activité hépatique car cette protéine est synthétisée au niveau du foie [355]. Dans notre présent travail, les taux de l'albumine dans le liquide folliculaire et kystique se rapprochent et sont en conformité avec les données publiées [356, 332, 335] indiquant ainsi un bon fonctionnement hépatique.

Les triglycérides constituent la forme de stockage des lipides dont l'hydrolyse fournit une molécule de glycérol et trois molécules d'acides gras. De ce fait, ils pourraient être des sources alternatives d'énergie pour le développement folliculaire [323, 335]. Diverses études ont noté de faibles concentrations de triglycérides dans l'antrum des follicules préovulatoires par rapport aux petits follicules, ce qui témoigne leur utilisation rapide et continue par ces follicules [323, 357]. Dans notre présente étude, on a trouvé des concentrations identiques dans les liquides folliculaire et kystique, ce qui est en conformité avec les travaux de Ali et al. [39] chez les camelins. La concentration moyenne mentionnée dans notre travail est similaire à celles notées dans différentes études chez les vaches laitières [323, 332, 335, 336] et reste inférieure à celle rapportée par Acar et al. [337] chez les buffles. Selon ce dernier, la divergence des résultats peut être liée à la différence de l'élevage, l'âge, la nutrition et le taux de mobilisation des lipides par les animaux. Il ajoute aussi que les buffles contiennent plus de triglycérides et de cholestérol dans le sérum par rapport aux vaches et aux camelins.

Le cholestérol est le précurseur de toutes les hormones stéroïdiennes y compris la progestérone et les œstrogènes chez la femelle [336, 322]. Dans le liquide folliculaire, le cholestérol se lie aux lipoprotéines de haute densité car c'est seulement cette fraction qui peut passer à travers la barrière hémato-folliculaire [323]. Dans cette présente étude, les faibles taux du cholestérol dans le liquide kystique peuvent être expliqués soit par sa biotransformation en stéroïdes [322], soit par l'influence du niveau faible de glucose sur ce taux. Dans ce contexte, Rabiee et Lean. [358] ont constaté que la prise du glucose et celle du cholestérol par l'ovaire sont fortement corrélées chez les ovins et les bovins. Tous ces deux métabolites sont essentiels à la fonction ovarienne et peuvent éclaircir le mécanisme par lequel une balance énergétique négative peut influencer le métabolisme ovarien [359]. De plus, les faibles taux de glucose et de cholestérol chez les vaches laitières en post-partum sont associés avec l'allongement de l'intervalle vêlage-conception [360, 361]. Les études *in vitro* ont également montré un rôle régulateur du cholestérol sanguin dans la production des stéroïdes par le tissu ovarien [359]. Malgré tout ce qui a été rapporté, ce dernier auteur a affirmé que les mécanismes par lesquels le cholestérol peut influencer la fertilité des cheptels laitiers sont peu clairs. Chez les ovins, Rufai et al. [345] ont noté un résultat similaire entre 02 groupes d'animaux, cyclés et non cyclés. Chez les camelins,

Ghoneim et al. [344] n'ont rapporté aucune différence significative entre les concentrations du cholestérol dans le liquide folliculaire et kystique.

ASAT, ALAT et GGT sont des enzymes sériques présentes dans le foie, impliquées dans la dégradation et le transport des acides aminés. L'activité de ces enzymes augmente lors de troubles hépatocellulaires ou cholestatiques [362]. Il faut noter que la GGT constitue l'un des marqueurs spécifiques du foie chez les ruminants [330] et que l'ASAT est l'indicateur le plus fortement corrélé aux corps cétoniques. L'augmentation de l'activité de cette enzyme (en association avec d'autres enzymes), de même que les taux de bilirubine totale et d'acides biliaires caractérisent la cétose chez la vache laitière [363]. Sachant que le foie est le lieu principal de production de l'IGFI, Zulu et al. [192] ont noté une corrélation négative entre l'ASAT et l'IGFI. De plus, l'élévation du taux de l'ASAT seulement peut indiquer une cytolysse musculaire [364]. Le suivi de l'activité des enzymes hépatiques (surtout la GGT) est indispensable pour interpréter les valeurs des paramètres biochimiques car un dysfonctionnement hépatique peut modifier les concentrations des marqueurs du statut énergétique, même si la ration est ajustée aux besoins des animaux [356]. Dans cette présente étude, les taux de l'ASAT, l'ALAT et la GGT étaient dans les valeurs usuelles rapportées dans les différentes études ce qui témoigne l'intégrité et le fonctionnement hépatique confirmés davantage par les concentrations normales de bilirubine totale.

La phosphatase alcaline est une enzyme lysosomiale, ubiquitaire, qui catalyse diverses réactions dans l'organisme. Elle est impliquée dans le transport actif des phosphates à travers la membrane cellulaire et la synthèse protéique [336, 365]. Elle est localisée dans la thèque interne et dans les cellules endothéliales du follicule antral et fait partie des composants du liquide folliculaire chez l'Homme, les bovins, les camelins et le porc [344]. La phosphatase alcaline (PAL) est associée à une atresie imminente, et est inversement corrélée avec la taille du follicule. La corrélation positive entre l'activité de la PAL et le taux de la P4 peut indiquer que la PAL constitue un indicateur métabolique utile de l'atresie folliculaire [366]. Dans cette présente étude, la différence des taux de la PAL dans le liquide folliculaire et kystique n'est pas significative. Des résultats semblables ont été rapportés chez les camelins [344] et chez les buffles [17] quoique ce dernier auteur dans une autre étude a rapporté un résultat différent et a assuré davantage l'état atrétique des follicules kystiques [247].

Les kystes ovariens peuvent être induits par l'administration exogène de l'ACTH [367], supposant ainsi l'association entre le stress et la formation du KO chez la vache [219], due probablement à l'action disruptive des grandes quantités du cortisol sur la synthèse des hormones [17]. Dans notre travail, les taux de cortisol dans le liquide kystique étaient faibles comparés à ceux contenus dans le liquide folliculaire, en accord avec d'autres travaux : Isobe et al. [12]; Cairoli et al. [219]; Probo et al. [368], (plasma des bovins) et Ghoneim et al. [344], (liquide folliculaire et sérum des camelins). Par contre, des concentrations élevées en cortisol ont été notées dans le liquide kystique chez les buffles [17]. Malgré que le stress puisse être l'un des mécanismes impliqués dans la pathogénie du KO, un rôle notable du cortisol dans la formation et/ou la persistance du KO n'a pas été signalé dans ce présent travail.

Il est bien connu que l'urée constitue un indicateur très intéressant du statut nutritionnel azoté car elle reflète le rapport (PDIN- PDIE)/UFL [369]. Dans notre étude, le taux d'urée dans le liquide kystique dépasse significativement celui du liquide folliculaire, en accord avec d'autres travaux [158, 370]. La forte corrélation qui existe entre le sérum et le liquide folliculaire laisse suggérer que les grandes concentrations d'urée dans le sérum sont reflétées dans ce liquide [323, 371]. Le taux élevé d'urée peut être dû à un régime trop riche en protéines brutes (17-19%) qui constitue habituellement la ration de base des vaches laitières hautes productrices [371, 372]. L'excès azoté est aggravé par la suite par le déficit énergétique expliqué par le manque de substrats carbonés et d'énergie pour la protéosynthèse microbienne et l'uréogénèse [355, 356]. L'hypoglycémie décelée dans le liquide kystique témoigne ce résultat. En pratique, la diminution des capacités de protéosynthèse se traduit par un taux normal d'albumine ou légèrement diminué, ce qui est montré aussi dans notre étude. En fait, les données concernant l'effet des niveaux élevés d'urée sur la fertilité sont contradictoires, bien que tous les auteurs aient noté un effet nuisible possible sur l'ovocyte [323, 339]. D'après Ferguson et al. [373], chaque fois que l'urémie augmente de 1 mg/dl (0.17 mmol/l), le taux de conception diminue de 0.8 %. Gonzalez et Rocha [355] ont noté une urémie très élevée chez des vaches qui ont plus de 120 jours post-partum. Par la suite, Jackson et al. [198] ont rapporté qu'un excès d'urée semble avoir un effet sur l'ovaire et l'utérus. D'ailleurs, Les vaches ayant une concentration élevée d'urée et de NEFA en période postpartum sont deux fois plus susceptibles de développer

des KO. De plus, l'augmentation des niveaux d'urée à une semaine postpartum a été associée à une probabilité accrue d'endométrite chez les vaches primipares [374]. A ce propos, Butler [375] a révélé que des taux élevés d'urée peuvent induire une augmentation de la sécrétion de PGF2 α et une diminution de liaison de LH à ses récepteurs ovariens à l'origine d'une hypofertilité.

Dans ce travail, les concentrations moyennes de la créatinine dans le liquide folliculaire et kystique ne diffèrent pas significativement et sont conformes avec les normes décrites dans la bibliographie [332, 335, 337].

Puisque les éléments cytosquelettiques sont responsables de déterminer la morphologie et la forme des cellules, cette étude au sujet de l'expression d'une protéine cytosquelettique a été réalisée dans le but d'étudier l'existence possible d'une relation entre son immunolocalisation et l'organisation de la paroi folliculaire dans le cas du KO. Généralement, la forte localisation de la vimentine dans les cellules de la granulosa est en rapport avec une activité mitotique, une atresie folliculaire et une dédifférenciation liée à la perte du contact entre les cellules [376]. Cependant, si l'activité proliférative des cellules de la granulosa et de la thèque interne tend à diminuer dans le cas du KO, les changements de l'expression de la vimentine sont peut être dus à la dédifférenciation cellulaire. Cela est en accord avec les résultats de Baravalle et al. [377, 327] chez la ratte et Ortega et al. [26] chez la vache. Tous ces auteurs ont rapporté que l'augmentation des filaments intermédiaires (appelés aussi 'filaments de stress') est un changement dégénératif. Enfin, l'expression élevée de la vimentine dans les parois du KF est probablement due à des changements structuraux et fonctionnels qui sont nécessaires pour un fonctionnement cellulaire correct durant la cystogénèse [378].

L'ovaire est l'un des sites uniques où la croissance, la maturation, et la dégénérescence des vaisseaux sanguins se produisent pendant le cycle sexuel [379]. L'augmentation de la vascularisation folliculaire se produit pendant le développement folliculaire [380] et durant la période de l'ovulation [381, 382]. La régulation de l'angiogénèse dans les structures ovariennes implique des facteurs endothéliaux spécifiques qui peuvent agir seuls ou associés, et dont la production anormale peut mener au dysfonctionnement vasculaire et aux désordres ovariens [379]. Parmi ces facteurs, le VEGF, la molécule angiogénique la plus importante dont l'ovaire était le 1^{er} organe dans lequel, il était caractérisé pour la 1^{ère} fois [383]. Dans cette présente étude, l'immunohistochimie a montré que la granulosa et la

thèque interne des KF étaient positives à l'immunoréaction contre le VEGF. Ces résultats indiquent que le VEGF est activement produit dans ces couches. Etant donné que le VEGF stimule les cellules endothéliales et augmente la perméabilité vasculaire, l'expression de ce facteur dans les parois kystiques peut jouer un rôle critique dans le transfert des composants du sérum vers la cavité folliculaire à partir des microvaisseaux et dans la prolifération des cellules endothéliales [246]. De plus, il est important de signaler que le VEGF inhibe l'apoptose en induisant l'expression des facteurs anti-apoptotiques notamment le Bcl-2 dans les parois des KO. L'inhibition de l'apoptose peut engendrer un désordre des changements dégénératifs du follicule, ayant pour résultat la formation du KO [165]. Notre résultat concorde bien avec les travaux de Ferrara et al. [384] chez la femme souffrant du SOPK ; Maniwa et al. [242] et Isobe et al. [385] chez la vache ; Ortega et al. [26] chez la ratte. Enfin, il est important de signaler que le rôle des œstrogènes dans le développement du réseau vasculaire dans le KF a été proposé dans diverses études [246, 383]. D'après ces résultats, nous supposons que l'expansion excessive des KF dépend de la stabilité et du développement de la vascularisation dans ses parois.

L'expression d'une protéine de survie, B-cell lymphomal leukemia-2-related proteins (Bcl-2), était intense dans les parois du KF. Selon Townson et Combelles [386], le Bcl-2 augmente la capacité antioxydante des cellules tout en atténuant le stress oxydatif à l'origine des premiers stades de l'apoptose. De ce fait, l'expression de ce facteur peut indiquer la tendance du KF à persister plus longtemps. Cependant, le KL qui est caractérisé par des taux élevés de P4 n'a pas exprimé le Bcl-2 dans ces parois. Par conséquent, la persistance de ce type de KO est assurée par d'autres substances parmi lesquelles la P4 dont les expériences ont prouvé son action antiapoptotique chez plusieurs espèces notamment les rongeurs, les bovins et l'Homme. Okuda et al. [387] ont supposé le rôle de la P4 dans une voie de survie du corps jaune bovin par l'inhibition de l'expression de l'ARNm du FAS et du Caspase-3 sans changer l'expression des gènes du Bcl-2 et de Bax, ce qui empêche par conséquent la lutéolyse. De plus, Shimizu et Miyamoto [383] ont suggéré la contribution de la P4 dans l'angiogénèse, ce qui nous laisse supposer dans notre étude les mêmes effets de cette hormone dans le cas de KL. Notre résultat rejoint celui de Salvetti et al. [28] chez la ratte et Salvetti et al. [167] chez la vache.

Les inhibines sont des membres de la famille du TGF- β (Transforming Growth Factor- β). Il s'agit de glycoprotéines dimériques produites par les follicules ovariens dont la principale activité biologique est d'inhiber la production de FSH et/ou sa libération par l'hypophyse antérieure. Les inhibines sont constituées de 2 sous-unités, la sous-unité α se combinant soit avec la sous-unité β A pour former l'Inhibine A soit avec la sous-unité β B pour former l'Inhibine B [388, 389, 390]. La domination de la sous unité α dans la régulation de diverses fonctions de reproduction notamment le contrôle de la production de FSH a été largement décrite dans plusieurs études [391]. Dans notre travail, la forte expression de l'inhibine α dans la granulosa du kyste folliculaire par rapport au follicule normal laisse suggérer son implication dans le mécanisme qui permet la persistance du follicule anovulatoire. Ce résultat est conforme avec celui de Stangaferro et al. [390]. Dans le même contexte, Kaneko et al. [222] ont démontré que les vaches kystiques ont des taux élevés d'inhibine A durant une longue période. Plus tard, Li et al. [398] ont rapporté que les concentrations d'inhibine α sont inversement corrélées avec les taux de FSH dans le cas du KF. De même, ils ont noté que le déséquilibre de production de FSH et de LH pourrait être une cause éventuelle de la formation du KO. En effet, la présence d'une concentration suprabasale de P4 est en cause du maintien de la libération plus élevée de LH responsable de la croissance excessive et de la persistance du follicule dominant. Celui-ci continue à synthétiser l'E2 et l'inhibine qui empêche la libération de FSH et donc l'émergence d'une nouvelle vague de croissance folliculaire [277].

Dans ce travail, nous n'avons noté aucune expression des facteurs apoptotique (BAX) et prolifératif (Cycline D1) dans les parois du FL, du KF et du KL. Cela dépend peut être de l'anticorps utilisé, ou bien du pré-traitement de la coupe.

CONCLUSION

Dans ce travail, certains paramètres du profil hormonal, biochimique ainsi que l'immunoexpression de certains facteurs diffèrent nettement de ceux du groupe de

contrôle. De ce fait, nous pouvons conclure que les kystes ovariens ne se définissent pas comme étant un désordre simple, mais plutôt une association de plusieurs désordres entourant la même pathologie.

L'étude des KO en post-mortem nous a permis de noter des taux faibles en glucose et en cholestérol, et une concentration élevée en urée dans le liquide kystique. Ces changements réitèrent le fait que ces paramètres peuvent servir d'indicateurs importants du statut fonctionnel du follicule. Cependant, l'inévitable question de "si les changements sont une cause ou une conséquence de la pathologie ?" doit être prise en considération.

Les résultats obtenus indiquent que la cystogénèse est caractérisée par une transformation des parois kystiques incluant des changements de l'expression d'une protéine cytosquelettique, d'un marqueur de l'apoptose et de l'angiogénèse ainsi que celle de l'inhibine α . Ces changements peuvent être essentiels au fonctionnement cellulaire approprié et peuvent être dus à des modifications structurales et fonctionnelles qui ont lieu à l'intérieur des cellules et qui sont liées probablement aux changements hormonaux qui se produisent au cours de cette pathologie. D'autres études semblent être nécessaires pour évaluer le rôle spécifique, la régulation de chacune de ces composants cellulaires et leur participation dans la formation du KO.

A travers ce travail, nous avons assuré que l'IHC et le dosage des stéroïdes majeurs et de certains paramètres métaboliques dans le liquide folliculaire étaient des outils très bénéfiques afin d'étudier certains aspects du KO bien que plusieurs études restent à réaliser dans le futur afin de mieux caractériser le KO.

CHAPITRE 4
LE KYSTE OVARIEN DANS LA RÉGION DE LA MITIDJA

CHAPITRE 4

LE KYSTE OVARIEN DANS LA RÉGION DE LA MITIDJA

Le traitement du kyste ovarien et son efficacité supposent un diagnostic aussi précoce que possible chez les vaches en fin de période d'attente ou en période de reproduction [224], en prenant en considération le fait qu'au cours des premières semaines du post-partum, plus de 60% des kystes sont susceptibles de régresser spontanément [2]. De plus, le choix d'une stratégie thérapeutique doit dépendre également du degré d'exactitude (valeur prédictive) du diagnostic du kyste (folliculaire ou lutéinisé) identifié car si ce diagnostic est incorrect, cela mène à un traitement inadéquat [268, 392].

En effet, Il est très courant que les vétérinaires praticiens diagnostiquent le kyste ovarien en se basant sur une seule visite de l'animal affecté sans faire une réévaluation du diagnostic quelques jours plus tard [8], ce qui ne leur fournit pas une image précise du problème car cet examen indiquera seulement la taille du KO et sans analyse hormonale, il est impossible de déterminer si le kyste est fonctionnel ou pas. De même, le diagnostic du KO sur le terrain est basé traditionnellement sur l'historique de l'animal atteint et sur le résultat de la palpation transrectale. Cependant, les critères suggérés dans la littérature pour la distinction entre les types du KO sont divergents et mal définis. Par exemple, bien que la nymphomanie soit le comportement observé en cas de KF et l'anoestrus en cas de KL, on peut également noter un comportement variable dans l'un des 02 cas [268].

En cette matière, il semble indispensable de recourir à l'échographie, voire au dosage de la progestérone plutôt qu'à la palpation manuelle [224]. Selon Rauch et al. [392], la valeur prédictive positive pour les kystes folliculaires ou lutéinisés diagnostiqués par palpation transrectale est de 66%, elle augmente à 74% pour les kystes folliculaires et jusqu'à 85% pour les kystes lutéaux quand l'examen échographique est effectué. Cette même valeur augmente aussi en réalisant le dosage de la P4.

De ce fait, afin de mieux cerner la pathologie kystique ovarienne sur le terrain, le protocole d'étude élaboré avec l'aide des vétérinaires praticiens, propose de mettre

en place un suivi dans différentes exploitations laitières pendant 2 années. Il a pour objectifs de:

1/ Déterminer les difficultés liées au diagnostic du KO en pratique, de comparer l'utilité de chaque méthode de diagnostic (palpation manuelle, échographie et dosage de la P4) dans l'identification du type du KO et d'évaluer l'efficacité du traitement à l'aide de GnRH, de PGF2 α et de l'association PRID-PGF2 α .

2/ Décrire le statut énergétique et azoté des vaches kystiques qui ont plus de 60 jours PP par l'exploration du profil métabolique et la note de l'état corporel.

3/ A la fin, une étude statistique qui vise à comparer les résultats du dosage des différents métabolites dans le liquide folliculaire et le sérum sera envisagée.

4.1 Matériels et méthodes

4.1.1 Période et particularités géographiques de la zone d'étude

L'étude s'est déroulée du 03 avril 2013 jusqu'au 5 janvier 2015, dans la région de la Mitidja.

- Situation géographique

La Mitidja se répartit à travers une vaste étendue par une superficie de 1400 km². Sa longueur d'Est en Ouest atteint les 100 km et du nord au sud, elle varie entre 15 à 20 km. Elle est limitée au sud par les piémonts de la chaîne montagneuse de l'Atlas de Blida et au Nord par le Sahel, bande accidentée de quelques kilomètres de large qui bordent la mer méditerranéenne et sur laquelle se situe la ville d'Alger. Cette topographie fait que la plaine présente un potentiel de production important, de part ses sols fertiles bénéficiant d'un climat tempéré et d'une pluviométrie suffisante.

La Mitidja est divisée en 03 unités du point de vue hydro-agricole :

- La Mitidja Ouest, à l'Ouest de l'Oued de Chiffa ;
- La Mitidja Centre, entre les Oueds de Chiffa et El-Harrach ;
- La Mitidja Est, entre les Oueds d'El-Harrach et Boudouaou.

Cette plaine englobe successivement les wilayas de Tipaza, de Blida, d'Alger et de Boumerdès, d'Ouest en Est [393]. L'étude a été menée dans les régions de Boufarik (Wilaya de Blida) et de Rouiba et El-Harrach (Wilaya d'Alger) (Figure 4.1).

- Climat

Le climat du Nord de l'Algérie est de type méditerranéen, à savoir, doux et humide en hiver, et chaud et sec en été. Néanmoins, même dans cette zone, on constate des variations climatiques importantes qui déterminent le potentiel agricole. Sur la plaine, le climat est légèrement continental et bénéficie moins des effets de la mer. La température moyenne annuelle varie entre 15-19°C alors que les températures minimale et maximale sont de 10°C en hiver et 40°C en été. Cette plaine possède une pluviométrie assez importante. Environ 70% de la pluie annuelle tombe entre Novembre et Mars, et moins de 5% de la pluie tombe entre le mois de Juin et d'Août. Plus particulièrement, les précipitations pluviales varient entre 670 à 800 mm/an avec un dépassement de 1000 mm/an pour les mois de novembre, décembre et janvier [393].

- Végétation

La répartition des terres est donnée par les grands groupes de cultures, et par les régions, on peut distinguer :

- Le littoral du Sahel Est d'Alger où les maraîchages irrigués et diversifiés avec plasticulture développée ;
- Le sublittoral, le maraîchage représente 40% des superficies irriguées du Hamiz et 9% de celle du reste de la Mitidja.
- La région agrumicole de Boufarik s'étend depuis Mouzaia à l'Ouest jusqu'à l'Araba à l'Est.

- Elevage bovin

L'élevage est majoritairement de type extensif ; les éleveurs achètent les aliments et louent généralement des parcelles de terrains pour subvenir aux besoins de leur cheptel. Ces éleveurs visent une production mixte de lait et de viande avec une forte rotation du cheptel [393].

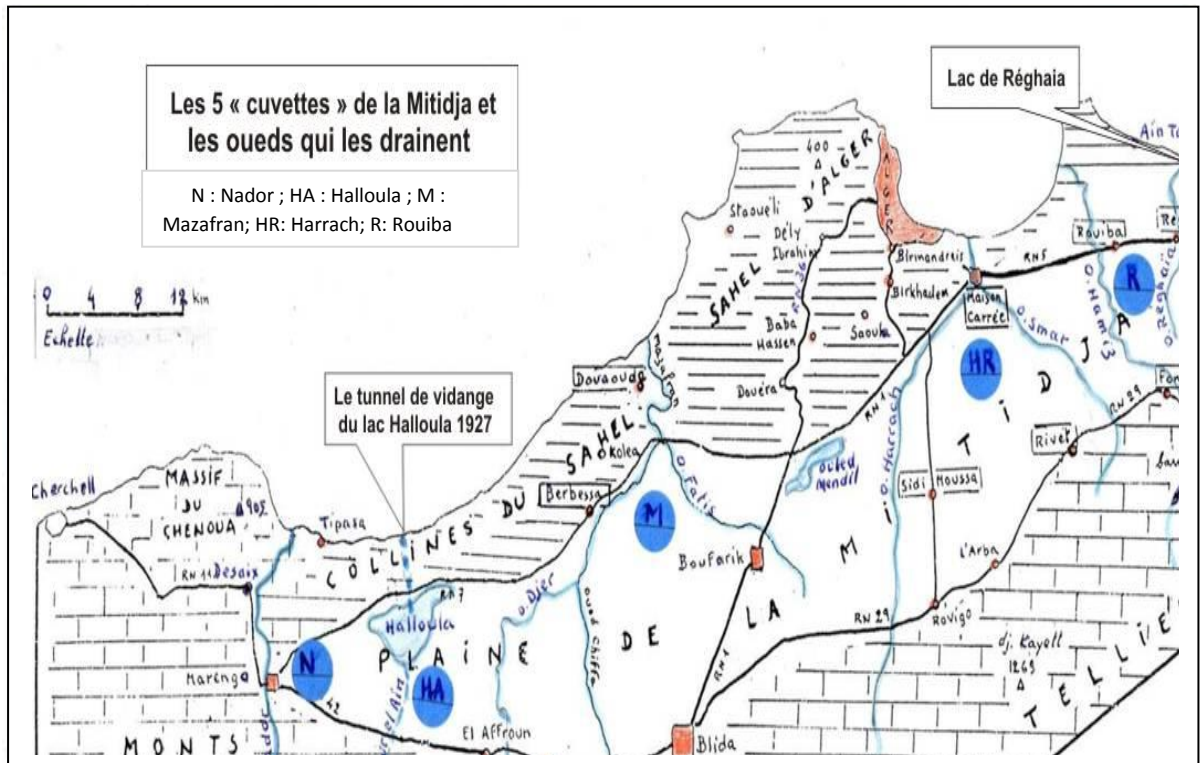


Figure 4.1 : Situation géographique de la zone d'étude (451)

4.1.2 Description des exploitations

Pour cette étude, un effectif global de 504 vaches laitières provenant de 12 fermes privées a été mis à notre disposition. Le choix des exploitations a été fait d'une part, selon la réceptivité de l'éleveur, d'autre part, pour obtenir la plus grande homogénéité pour chacun des critères suivant :

- Le mode d'élevage pratiqué dans ces fermes est de type semi-intensif.
- Les animaux inclus sont des vaches laitières, provenant de différentes races (Prim'Holstein, Montbéliarde, Fleckvieh et race croisée), maintenues dans des bâtiments relativement propres, avec une bonne aération. Toutes les vaches étaient en stabulation semi-entravée (Figure 4.2).
- Les conditions d'hygiène sont relativement bonnes.
- Le mode de reproduction suivi dans toutes ces exploitations est l'insémination artificielle.
- A l'exception de la 1^{ère} ferme visitée (Ferme A), la ration distribuée est la même pour toutes les vaches quelque soit l'âge, le poids, l'état physiologique et la production laitière (foin, paille, concentré principalement). Dans ces fermes, l'alimentation a connu des variations selon la disponibilité fourragère. Dans la ferme A, l'éleveur a distribué des rations adaptées au stade physiologique de l'animal. L'eau est distribuée à volonté dans toutes les exploitations.
- La production laitière moyenne se situe entre 10 – 20 litres par jour.

Les informations relatives à chacune des fermes sont regroupées en annexe 7.



Figure 4.2 : Quelques exploitations visitées

4.1.3 Animaux

A. Critères d'inclusion

Les animaux inclus dans l'étude sont des vaches laitières en période de lactation, à plus de 60 jours post-partum (entre 60-215j PP), âgées entre 4 et 12 ans, supposées kystiques après palpation transrectale des vétérinaires praticiens. Selon ces derniers, la plainte des propriétaires ou du personnel de chaque ferme était les échecs successifs de l'IA (Bien que normalement une vache ayant des KO ne doive pas être inséminée). Le diagnostic du KO est confirmé par la suite par échographie tout en respectant les critères de définition du KO sauf l'aspect ' persistance du KO' qui n'est pas pris en compte en pratique [224].

Dans ce travail, les vaches cyclées qui ont plus de 60 jours PP constituent les témoins. Ces animaux (n=60) ont été sélectionnés à partir des exploitations choisies dans l'étude. Ils avaient des follicules préovulatoires suivis par des corps jaunes.

Les animaux exclus dans l'étude sont ceux:

- ayant une maladie concomitante (Figure 4.3);
- ayant avorté lors de la dernière gestation ;
- gestants pendant la période d'étude ;
- présentant un comportement d'œstrus et ayant eu une insémination artificielle en cours de protocole.



Figure 4.3 : Animal présentant une tumeur utérine, exclu de l'étude

B. Données recueillies

Pour chaque animal, les données suivantes ont été relevées : Age, race, nombre de jours postpartum, rang de lactation, production laitière journalière, pathologies et traitements en post-partum, conditions de la mise-bas et comportement observé.

4.1.4 Protocole expérimental

Notre démarche consiste à réaliser les opérations suivantes :

4.1.4.1 Palpation transrectale et échographie ovarienne

Le propriétaire de la ferme assure la contention des vaches tout au long de l'examen au moyen d'une prise nasale ou en utilisant une pince-mouquette. Une vidange préalable du rectum de son contenu en matières fécales est réalisée à la faveur d'une première palpation transrectale réalisée par des vétérinaires praticiens expérimentés. Cette palpation permet d'examiner l'état de l'appareil génital tout en déterminant l'état de l'involution utérine et les structures ovariennes présentes.

L'échographie des 02 ovaires est réalisée à l'aide d'un échographe EXAGO (ECM, Noveko International Inc., Angoulême, France). Cet échographe est muni d'une sonde endorectale linéaire multifréquence (5-7.5 MHz). Pour avoir une image ovarienne de qualité satisfaisante, l'échographe est programmé sur une fréquence élevée (7.5 MHz). Les différentes structures présentes ont été identifiées selon les critères décrits par Chastant-Maillard et al. [394], élucidés dans le tableau 4.1. La Figure 4.4 illustre la méthode de mesure. Deux mesures perpendiculaires sont réalisées (D1 et D2) et le diamètre de la structure folliculaire est calculé comme la moyenne des deux mesures. L'épaisseur de la paroi des KO est également mesurée (D3). Les images ont été enregistrées dans la mémoire numérique de l'échographe et les fichiers ont été ensuite transférés sur ordinateur.

Tableau 4.1 Diagnostic différentiel des organites ovariens par échographie chez la vache [394]

Élément anatomique	Particularités de la structure	Caractéristiques de la paroi
Follicule	<ul style="list-style-type: none"> - Contours de l'ovaire visibles sur l'écran ; - Zone sphérique ; - Contenu parfaitement anéchogène entouré d'une paroi fine. 	Paroi 1 à 2 mm
Corps jaune	<ul style="list-style-type: none"> - Contours de l'ovaire visibles sur l'écran ; - Sphérique +/- bouchon de champagne ; - Echogénicité moyenne, homogène (sauf renforcement hyperéchogène en son centre) ; - Dans 40% des cas, cavité anéchogène entourée d'une paroi épaisse. 	Si la cavité existe, paroi de 5 mm minimum
Kyste folliculaire	<ul style="list-style-type: none"> - Zone anéchogène de diamètre > 25 mm ; - Parfois flocons grisâtres en suspension ; - Fréquemment plusieurs sur le même ovaire. 	Paroi 1 à 2 mm
Kyste lutéal	<ul style="list-style-type: none"> - Zone anéchogène > 25 mm ; - Souvent travées conjonctives traversant la lumière. 	Paroi épaisse 3-5 mm

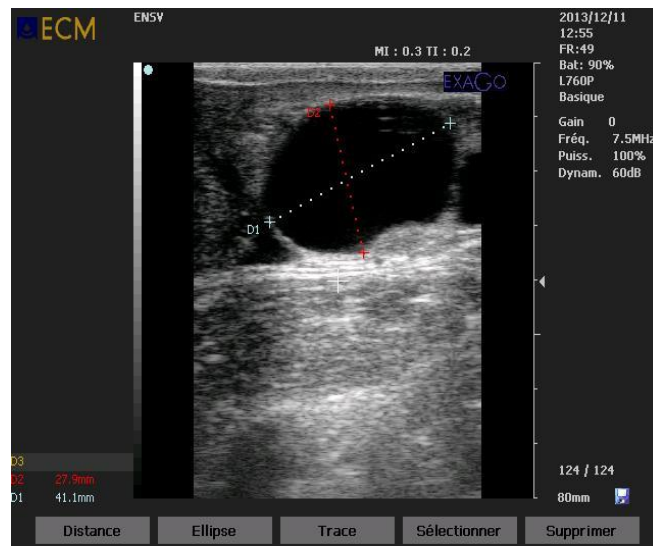


Figure 4.4 Méthode de mesure des dimensions d'une structure ovarienne

4.1.4.2 Notation de l'état corporel

Pour évaluer le bilan énergétique des animaux atteints par les KO, la note d'état corporel est attribuée à l'animal sur la base de l'apparence des tissus recouvrant des proéminences osseuses des régions lombaire et caudale [373]. Bien que subjective, cette méthode est très utilisée sur le terrain du fait qu'elle est pratique et fiable et n'est pas coûteuse. En général, Les critères de notation retenus sont ceux mis au point par Edmonson et al. [395] et Bazin [396] (Annexes 8 et 9). Quatre critères anatomiques arrières (base de la queue, tubérosité ischiatique, détroit caudal, ligne du dos) et 2 critères anatomiques latéraux (apophyses transverses et épineuses, pointe de la hanche) sont notés sur une échelle de 1 à 5, la note minimale correspondant à un animal très maigre, la note maximale correspondant à une vache très grasse. A chaque visite d'élevage, la note d'état corporel a été réévaluée afin de pouvoir contrôler l'évolution de l'état corporel des vaches au cours du protocole.

4.1.4.3 Dosages hormonaux et biochimiques

Les prélèvements sanguins ont été faits à la veine jugulaire sur des tubes secs de 4ml (Vacuette®, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmunster, Autriche) avant la distribution d'aliments, principalement le matin (à l'exception des prélèvements réalisés pour le dosage du BHB qui ont été récoltés dans les 4 heures suivant le repas). Ils ont été centrifugés pendant 20 minutes à 35000 tours/mn à l'aide d'une

centrifugeuse portable. Les sérums ainsi obtenus sont prélevés au moyen d'un micro-pipeteur, transvasés dans des tubes eppendorf puis congelés à - 20°C sauf les tubes qui servent pour le dosage de l'ALAT, ils ont été conservés à +4°C pendant au moins 7 jours étant donné que ce paramètre est instable à - 20°C [330]. Les prélèvements sont transportés dans les jours qui suivent, au laboratoire de Biochimie Clinique pour les analyses. Ces dernières ont été réalisées en séries. Chaque jour, une dizaine de sérums étaient sortis du congélateur, ramenés à température ambiante, passés au vortex quelques secondes pour les homogénéiser avant dosage.

❖ Profils biochimiques

Les dosages sont réalisés au moyen d'un multi-analyseur Architect plus, ci 4100 (Architect c Systems, Abbott Diagnostics, Allemagne), avec des kits de réactifs commerciaux pour le glucose, le cholestérol, l'albumine, l'urée, la créatinine, l'ASAT, l'ALAT, la GGT et le BHB. Les réactions catalysées par l'automate sont de type enzymatique colorimétrique et se font selon les recommandations du manufacturier. Dans l'annexe 3, sont décrits le principe de chaque méthode et le kit utilisé.

❖ Dosages hormonaux

a. Insuline et cortisol

Le dosage de l'insuline et du cortisol sériques est réalisé dans l'analyseur Cobas e 411 par électrochimiluminescence avec un kit commercial humain appliqué aux bovins (Roche Diagnostics GmbH, Allemagne). La limite minimale de détection est de 0.5 nmol/l pour le cortisol et de 0.2 µU/ml pour l'insuline.

b. Progestérone

Le dosage de la progestérone est réalisé dans le but de compléter l'examen échographique des ovaires, permettant ainsi une meilleure identification du type du KO. Les concentrations sériques de progestérone étaient déterminées dans l'analyseur Architect plus, ci 4100 par un immunodosage par compétition utilisant la technologie de chimiluminescence. Selon le manufacturier, la limite minimale de détection est de 0.1 ng/mL. Les données relatives au principe du dosage et le kit sont regroupées en annexe 10. Dans notre étude, une valeur seuil de 1 ng/ml a été prise en compte dans la classification des KO (KF : $P4 \leq 1$ ng/ml ; KL : $P4 \geq 1$ ng/ml)

[8, 12, 16, 397]. Les kystes qui ont une paroi ≤ 3 mm, présentant des zones ou taches échogéniques, avec un taux de P4 ≥ 1 ng/ml sont considérés des KL. En revanche, ceux qui ont une paroi ≤ 3 mm, montrant un contour anéchogène uniforme, avec un taux de P4 < 1 ng/ml sont des KF [12].

4.1.4.4 Traitement du kyste ovarien

Dans cette présente étude, nous avons utilisé les molécules de base habituelles pour le traitement du KO qui sont des analogues de la GnRH (Fertagyl, 0.1 mg/ml, Intervet, Union Européenne) et de la PGF2 α (Prostavet 2 ml, Virbac, France) par voie IM, adaptées pour chaque type du KO. A ces 02 hormones, nous avons ajouté un dispositif vaginal de progestérone (PRID, CEVA Santé Animale, France) associé avec un analogue de PGF2 α , Prostavet. Les animaux sont divisés en 02 lots : Lot de contrôle et lot traité. Le premier représente les animaux (n=10) qui n'ont subi aucun traitement et une surveillance quotidienne afin de détecter l'œstrus a été effectuée durant la période expérimentale. Pour le 2^{ème} lot, nous avons adopté le schéma thérapeutique suivant :

❖ Traitement du KF :

- ✓ groupe 1 (n=15) : injection de 0.1 mg/ml de Fertagyl.
- ✓ groupe 2 (n=10) : Insertion du PRID pendant 9 jours + injection de Prostavet 1 jour avant le retrait du dispositif.

❖ Traitement du KL :

- ✓ groupe 1 (n=15) : injection de 2 ml de Prostavet.
- ✓ groupe 2 (n=10) : Insertion du PRID pendant 9 jours + injection de Prostavet 1 jour avant le retrait du dispositif.

4.1.4.5 Contrôle de l'activité ovarienne après traitement

La réussite du traitement a été évaluée par l'expression d'un comportement d'œstrus par l'animal dans les 30 jours qui suivent le traitement. De ce fait, l'éleveur était en connaissance des animaux inclus dans l'étude au quotidien. Ainsi, lors de l'observation de sa part d'un comportement d'œstrus, nous en étions informés directement et l'IA est réalisée par le vétérinaire praticien dans les 12 dernières heures des chaleurs après contrôle échographique de l'activité ovarienne qui confirme la présence d'un follicule préovulatoire. Un autre examen échographique est réalisé en vue d'établir un diagnostic de gestation à partir du

30^{ème} jour suivant l'IA.

4.1.5 Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel STATISTICA (Version 10, Stat Soft France, 2003). Les différences statistiques dans les concentrations des paramètres métaboliques entre les vaches cyclées et kystiques, ainsi que la comparaison des taux des métabolites entre le compartiment vasculaire et le liquide folliculaire ont été menées au moyen du test t. Les caractéristiques des femelles kystiques, ainsi que la description des KO ont été analysées par le test Khi2. Les données sont exprimées en pourcentage ou en moyenne \pm écart type. Les résultats ont été considérés comme significatifs lorsque $P < 0.05$.

4.2 Résultats

4.2.1 Fréquence des kystes ovariens

Indépendamment du type de kyste ovarien, 60 vaches kystiques sont détectées sur un total de 504 animaux examinés, soit une fréquence de 11.9%. La classification du type de KO basée sur la palpation transrectale du vétérinaire praticien, l'échographie ovarienne et le taux sérique de la P4, est présentée dans le [tableau 4.2](#). Il faut signaler que les vétérinaires praticiens considèrent comme KF, un follicule anovulatoire, dépassant 25 mm de diamètre, présentant une paroi mince, dont ils peuvent l'éclater aisément, au contraire du KL qui a une paroi épaisse qui rend l'éclatement de cette structure impossible.

Tableau 4.2 : Classification des kystes ovariens selon le diagnostic utilisé

Type du KO	Palpation transrectale n (%)	Echographie n (%)	Dosage de P4 n (%)
KF	36 (60)	31 (51.66)	27 (45) **
KL	24 (40)	29 (48.33)	33 (55) *
Total	60	60	60

En se basant sur la palpation transrectale des vétérinaires praticiens, 60% des KO ont été classés comme étant des KF et le reste (40%) constitue les KL (Figure 4.5 et 4.6). Par contre, l'examen échographique a démontré des pourcentages différents des KO (51.66% KF ; 48.33% KL). Quant au dosage sérique de la P4, celui-ci a révélé que la fréquence des KL dépasse celle des KF (55% vs 45%, respectivement) ($P < 0.05$ dans tous les cas).

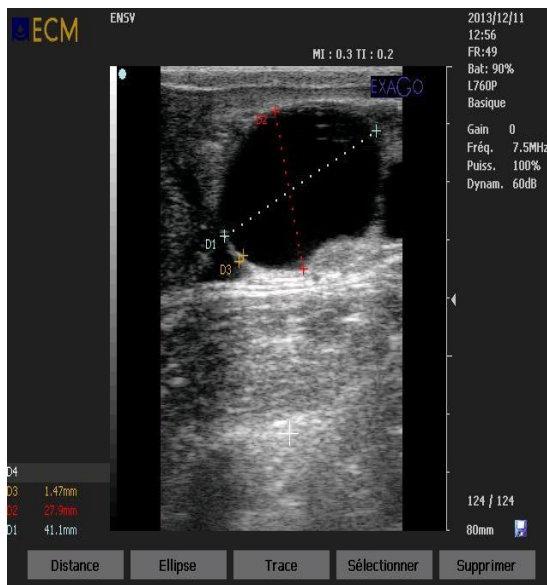


Figure 4.5 : Image échographique du KF
Photo personnelle

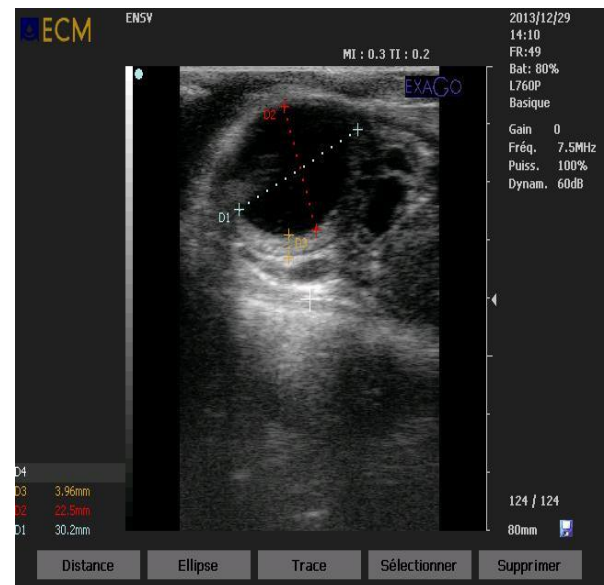


Figure 4.6 : Image échographique du KL
Photo personnelle

❖ Caractéristiques générales des femelles kystiques

Les figures 4.7, 4.8 et 4.9 montrent les caractéristiques des vaches kystiques incluant la répartition et la fréquence des KO selon le rang de lactation, le comportement observé et la race des femelles atteintes par les KO. La parité est exclue car tous les animaux kystiques examinés dans notre étude étaient multipares.

Au sein des animaux kystiques, la fréquence des KO est plus élevée chez ceux qui sont en 3^{ème} lactation, suivie par ceux qui sont en 4^{ème} lactation (41.66% et 36.66%, respectivement). Concernant les autres rangs du vêlage (2^{ème} et 5^{ème} lactation), les KO sont notés dans 18.33% et 3.33%, respectivement ($P < 0.001$) (Figure 4.7). D'après les éleveurs et les vétérinaires praticiens, l'anoestrus est le comportement prédominant associé avec les 02 types du KO (93.33%). La nymphomanie est notée dans 04 cas seulement, soit une fréquence de 6.66% ($P <$

0.001) (Figure 4.8). La Prim'Holstein est la plus atteinte par le KO par rapport à la Montbéliarde (61.66 % vs 38.33%) ($P < 0.001$). Concernant les autres races (Fleckvieh et croisée), aucune incidence n'a été révélée dans cette présente étude (Figure 4.9).

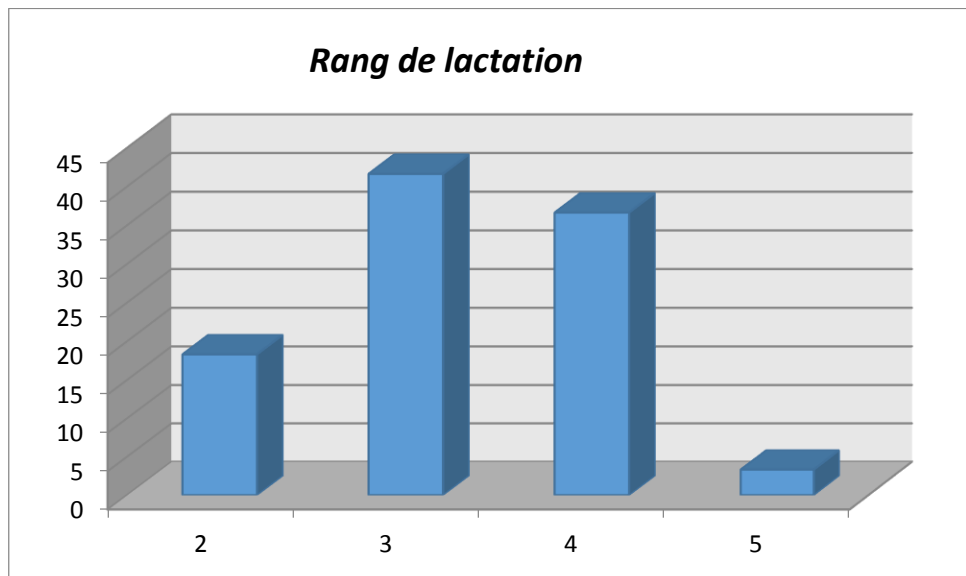


Figure 4.7 : Répartition des kystes ovariens selon le rang de lactation

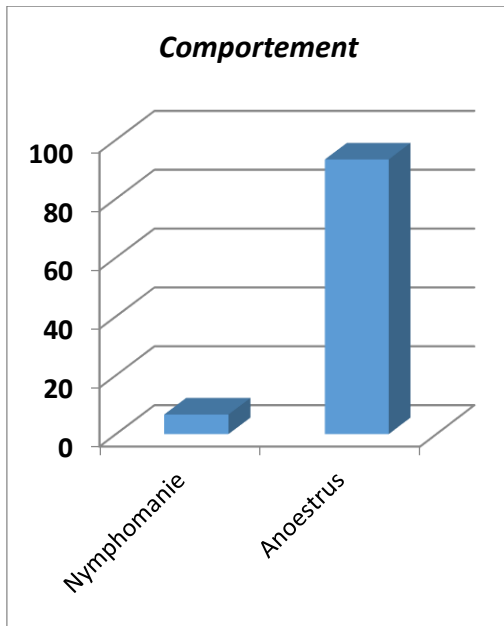


Figure 4.8 : Répartition des kystes ovariens selon le comportement de l'animal

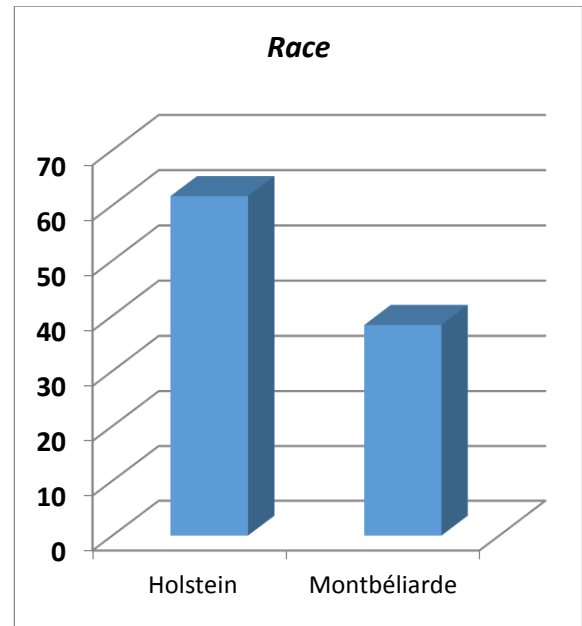


Figure 4.9 : Répartition des kystes ovariens selon la race

Une comparaison de la production laitière et du BCS entre les femelles cyclées et kystiques a été également réalisée dans cette étude et les résultats obtenus sont présentés sous forme de secteur dans la figure 4.10.

D'après cette figure, le BCS moyen des vaches kystiques est similaire à celui des animaux cyclés (3.1 vs 3.08) ($P > 0.05$). De même, la production laitière n'a pas différencié entre les 02 groupes d'animaux ($P > 0.05$).

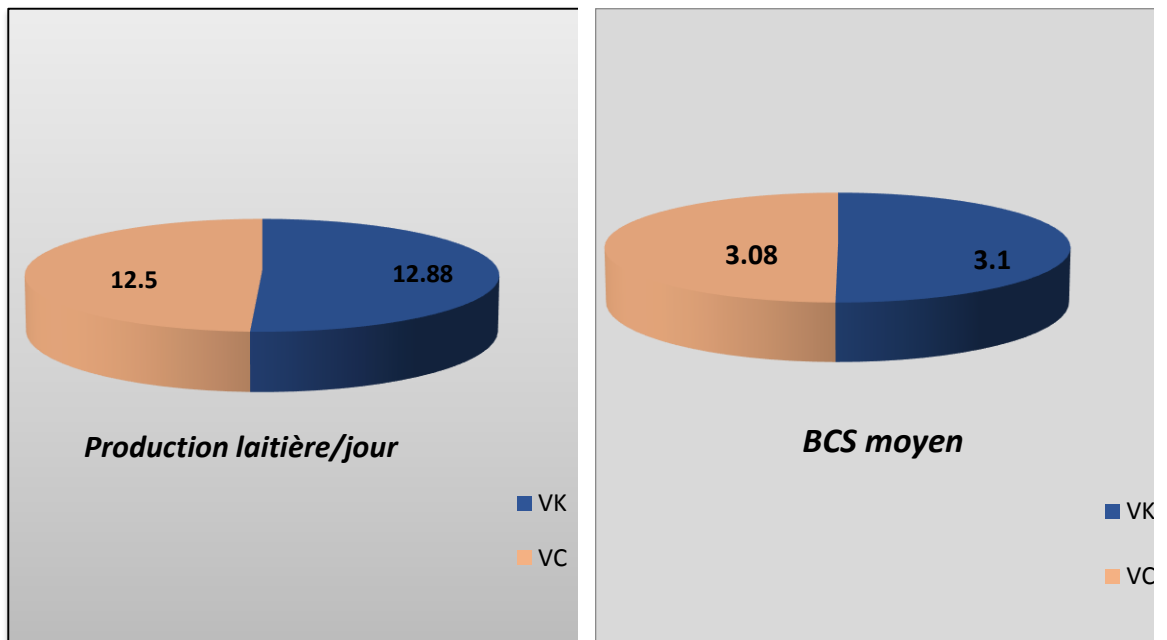


Figure 4.10 : Production laitière et BCS des animaux cyclés et kystiques

❖ Description des kystes ovariens

Les caractéristiques des kystes ovariens diagnostiqués dans cette étude sont élucidées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.3 : Description des kystes ovariens

Caractéristiques générales des KO (n=60)		n	%
Position	Droit	40	66.66
	Gauche	17	28.33
	Droit et gauche	3	5***

Nombre	Kyste unique	55	91.66
	Ovaire polykystique	5	8.33***
Saison	hiver	23	38.33
	printemps	10	16.66
	été	21	35
	automne	6	10**

Valeurs P : *** : hautement significatif ; ** : très significatif.

Les kystes ovariens diagnostiqués dans cette étude sont uniques dans plus de 91% des cas. Les ovaires polykystiques sont retrouvés chez 8.33% d'animaux ($p < 0.001$). La plupart de ces kystes sont retrouvés sur l'ovaire droit (66.66%). L'ovaire gauche est affecté dans 28.33% des cas tandis que l'atteinte simultanée des 02 ovaires est notée dans 5% des cas ($p < 0.001$). La majorité des kystes ovariens sont notés durant la saison d'hiver et d'été (38.33% et 35%, respectivement) tandis que 16.66% des kystes ovariens ont été détectés durant le printemps et 10% durant l'automne ($0.001 > P < 0.05$).

4.2.2 Résultats du traitement des kystes ovariens

Le taux et la date de retour en chaleur ainsi que le taux de réussite en 1^{ère} insémination artificielle des animaux kystiques sont illustrés dans le tableau 4.3.

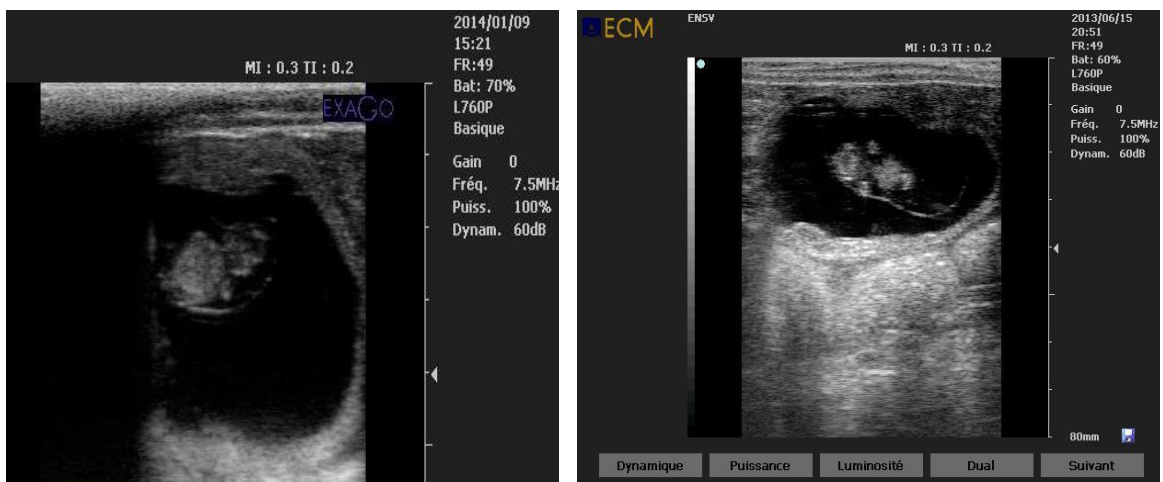
Tableau 4.3 : Résultats du traitement des kystes ovariens

Type du KO	Traitement	n	Taux d'œstrus (n/%)	Date d'œstrus (j)	Taux de réussite IA1 (n%)
KF	Fertagyl	15	8 (53.33 %)	20	4 (50)
	PRID+Prostavet	10	7 (70 %)	2j après retrait	2 (28.57)
KL	Prostavet	15	13 (86.66%)	3	8 (61.53)
	PRID+Prostavet	10	8 (80%)	2j après retrait	3 (37.5)
KF et KL	Groupe de contrôle	10	-	-	-
Total	-	60	36	-	17

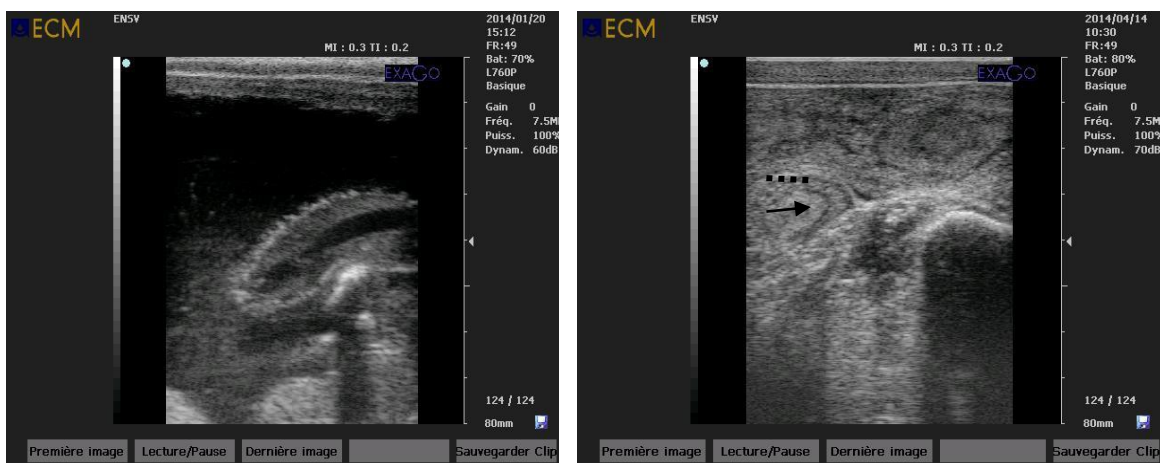
Le taux de manifestation d'un comportement d'œstrus chez les animaux traités avec Fertagyl est de 53.33% alors qu'il atteint 86.66% chez les animaux traités par Prostavet. Concernant les animaux qui ont été traités à base de l'association PRID-Prostavet, le taux des chaleurs noté est de 70% chez ceux qui ont des KF, et 80% chez ceux qui ont des KL. Au cours de cette expérimentation, nous avons remarqué

que quelques éleveurs (n=3) étaient impatients d'attendre les résultats du traitement par Fertagyl du fait du délai de manifestation d'œstrus qui est le plus long et ils ont décidé d'envoyer les vaches à l'abattoir.

Les animaux traités et ayant manifesté un comportement d'œstrus (n=36), ont été inséminés par la suite. Les résultats de cette insémination sont exprimés par un taux de réussite qui est significativement plus élevé chez les animaux traités par Prostavet (61.53%) par rapport à ceux traités par Fertagyl (50%) et par l'association PRID-PGF2 α (28.57% et 37.5% pour les KF et KL, respectivement). Le diagnostic de gestation est confirmé par échographie transrectale (Figure 4.11).



Embryons de 35 jours approximativement



Gestation de 55j approximativement

Cornes utérines vides : \rightarrow muqueuse et
 musculieuse

Figure 4.11 : Gestation confirmée par échographie (Photos personnelles)

4.2.3 Concentrations des paramètres métaboliques

Les résultats du dosage sanguin des différents paramètres métaboliques sont résumés dans le tableau 4.4. Ils sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type. Afin d'interpréter ces résultats, les valeurs de ces métabolites rapportées et/ou établies dans des études précédentes sont aussi mentionnées [323^a, 339^b, 336^c, 398^d, 158^e, 399^f, 340^g, 80^h, 368ⁱ, 400^j, 401^k, 402^l, 403^m, 330ⁿ, 32^o, 331^p, 334^q]. Le facteur de conversion adapté pour chaque paramètre est présenté en annexe 11.

Tableau 4.4 : Taux sérique des paramètres métaboliques chez des vaches kystiques et cyclées et les valeurs normales de ces métabolites rapportées dans la littérature

Paramètre	VK (n=60)	VC (n=60)	Intervalle de référence
Glucose (mmol/l)	3.66 \pm 0.37	4.67 \pm 1.28 ***	2.1- 5.56 ^{a, b, c, d, e, n, q}
Insuline (μ UI/ml)	1.65 \pm 1.03	5.02 \pm 1.3 ***	4.92 – 11.25 ^{e, g}
PT (g/l)	74.17 \pm 9.94	77.6 \pm 8.67 ^{ns}	70 – 94 ^{a, c, d}
TG (mmol/l)	0.19 \pm 0.10	0.19 \pm 0.13 ^{ns}	0.06 – 0.2 ^{a, b, m, n, q}
Chol (mmol/l)	3.61 \pm 0.88	3.22 \pm 1.43 ^{ns}	1.3 – 8 ^{a, d, f, k, q}
Cortisol (nmol/l)	51.71 \pm 15.74	30.41 \pm 13.87 ***	11.59 – 92.46 ^{a, h, i, p}
ASAT (U/l)	84.15 \pm 28.51	83.69 \pm 35.20 ^{ns}	56 – 176 ^{c, d, q}
ALAT (U/l)	22.88 \pm 4.7	22.57 \pm 7.26 ^{ns}	11 – 40 ^{o, q}
GGT (U/l)	22.81 \pm 6.2	23.46 \pm 6.11 ^{ns}	17 – 51 ^{c, d}
Urée (mmol/l)	1.39 \pm 0.23	4.02 \pm 3.2 ***	3.3 – 6.06 ^{a, b, j, q}
Créatinine (μ mol/l)	114.33 \pm 29.9	111.26 \pm 27.02 ^{ns}	88.4 – 240 ^{k, n, q}
BHB (mmol/l)	0.61 \pm 0.35	0.33 \pm 0.3 ***	< 0.8 ^{a, g, l, n}

VK : vaches ayant des KO ; VC : vaches cyclées.

Valeur P: ns: non significatif (P > 0.05), ***: hautement significatif (P < 0.001).

Le tableau 4.4 montre que les VK ont des taux significativement inférieurs en glucose que les vaches cyclées. Cependant, les valeurs moyennes étaient dans les normes admises dans les 02 groupes. L'insulinémie et l'urémie étaient très basses chez les VK et se trouvent au dessous de l'intervalle admis alors que chez les vaches cyclées, les valeurs se trouvent dans les normes. En contrepartie, les taux

de cortisol sont plus élevés chez les VK) par rapport aux vaches cyclées, mais les valeurs restent toujours dans l'intervalle de référence. Bien que les valeurs moyennes du BHB soient dans les normes, on a enregistré une différence significative entre les deux groupes d'animaux (VC et VK).

D'une manière générale, les taux de protéines totales, du cholestérol, des triglycérides, de créatinine ainsi que l'activité des enzymes hépatiques (ASAT-ALAT-GGT) étaient tous dans l'intervalle admis et le test statistique n'a révélé aucune différence significative entre les 02 groupes d'animaux (VC et VK).

4.2.4. Comparaison des concentrations des paramètres métaboliques dans le liquide folliculaire et le sérum

Les résultats du dosage des différents métabolites dans le liquide folliculaire et le sérum, ont montré dans le cas des KO, d'une part, des taux faibles en glucose, protéines totales, cortisol et cholestérol dans le liquide kystique alors que les concentrations moyennes en urée étaient élevées. D'autre part, les analyses sériques ont révélé des valeurs en insuline et en urée très faibles, alors que les niveaux du cortisol étaient relativement élevés. L'interprétation de ces résultats sera facilitée par l'analyse statistique qui permettra d'étudier les rapports entre le compartiment vasculaire et le liquide folliculaire dans le cas physiologique et pathologique (KO). Les figures 26, 27, 28, 29 et 30 élucident les résultats du dosage entre le liquide folliculaire et le sérum des différents paramètres métaboliques.

D'après les figures 4.12, 4.13 et 4.14, les taux de glucose, d'insuline et des protéines totales dans le liquide folliculaire et kystique sont significativement inférieurs à ceux contenus dans le sérum des vaches cyclées et kystiques ($p < 0.001$). Les valeurs les plus élevées sont notées dans le sérum des animaux cyclés tandis que le liquide kystique a présenté les taux les plus faibles.

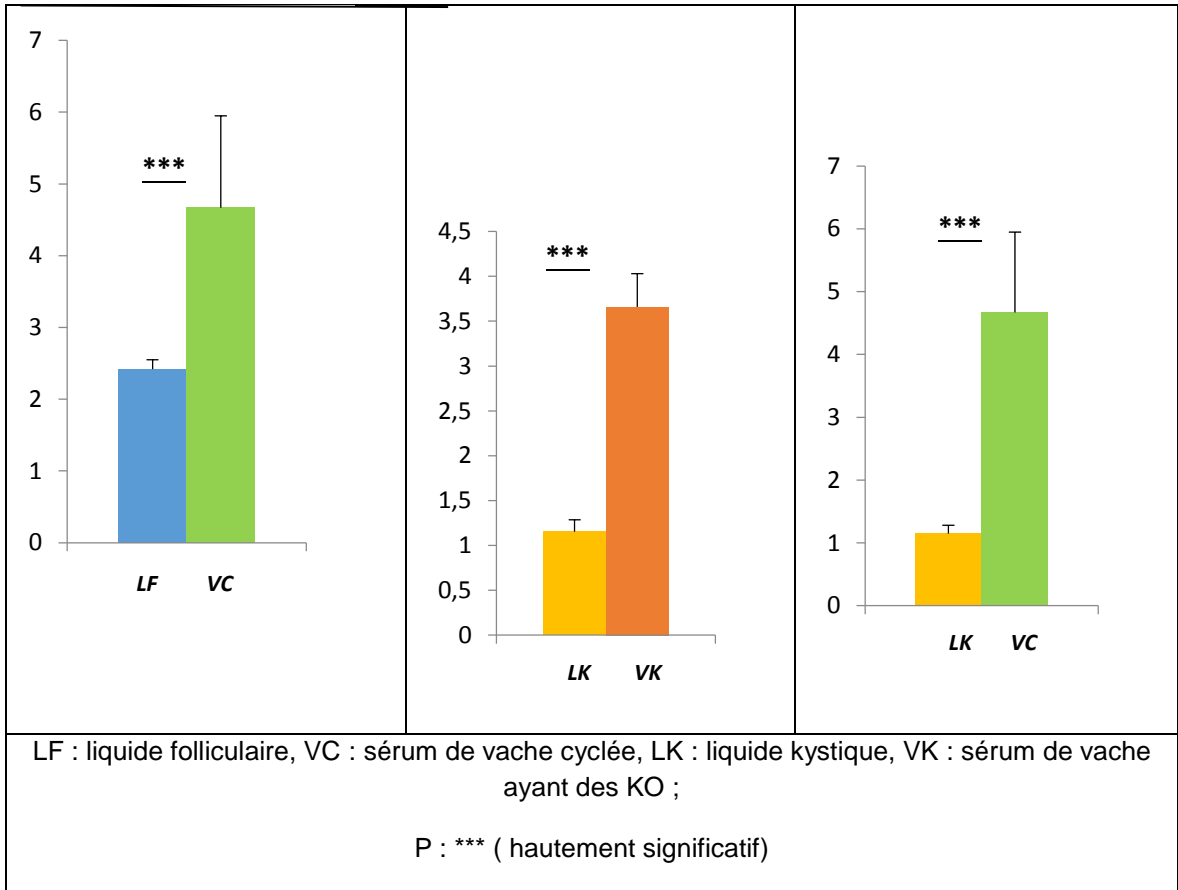


Figure 4.12 : Concentrations du glucose dans le liquide folliculaire et le sérum

--	--	--

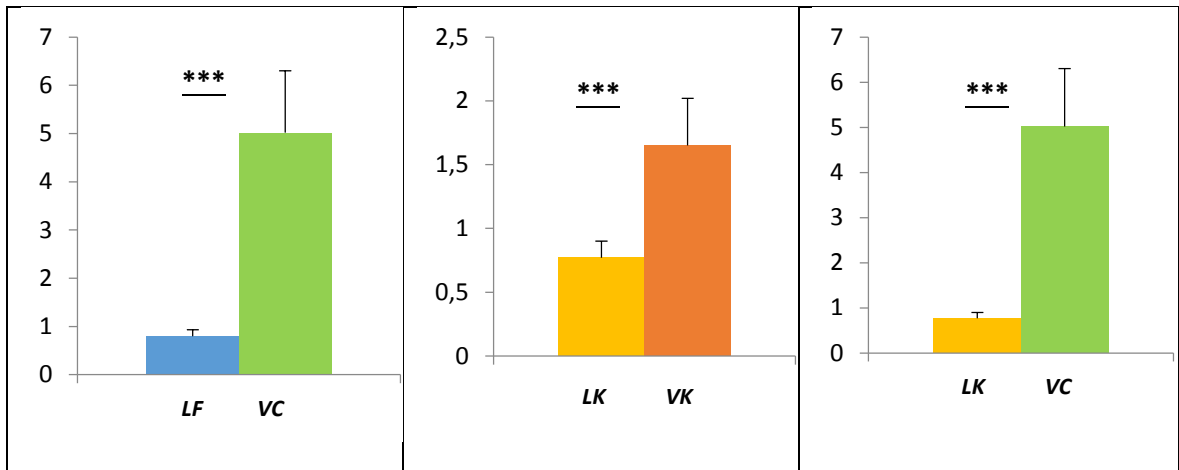


Figure 4.13 : Concentrations de l'insuline dans le liquide folliculaire et le sérum

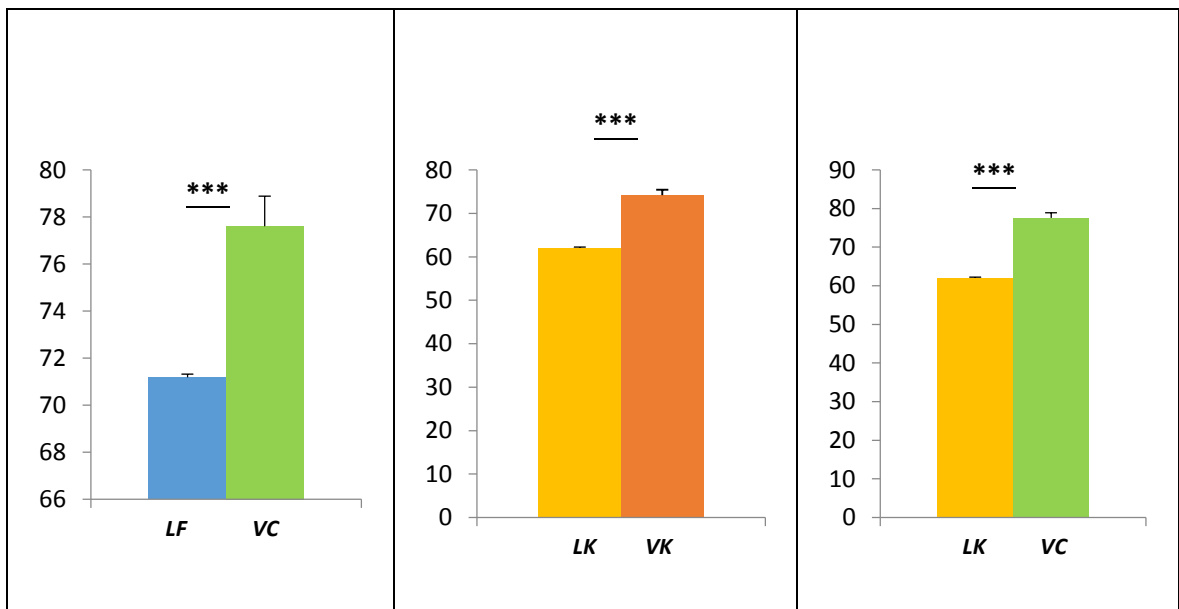


Figure 4.14 : Concentrations des protéines totales dans le liquide folliculaire et le sérum

Le test statistique n'a révélé aucune différence statistique dans les taux du cholestérol total, du cortisol et d'urée entre le liquide folliculaire et le sérum des vaches cyclées. Cependant, ce test a noté une différence hautement significative entre les concentrations en ces métabolites entre le liquide kystique et les vaches cyclées et kystiques (Figure 4.15, 4.16 et 4.17). Les niveaux les plus élevés en cholestérol et en cortisol sont notés dans le sérum des vaches kystiques alors que les plus faibles niveaux sont trouvés dans le liquide kystique. Concernant l'urée, les

valeurs les plus élevées sont révélées dans le liquide kystique alors que les plus bas niveaux sont notés dans le sérum des animaux kystiques.

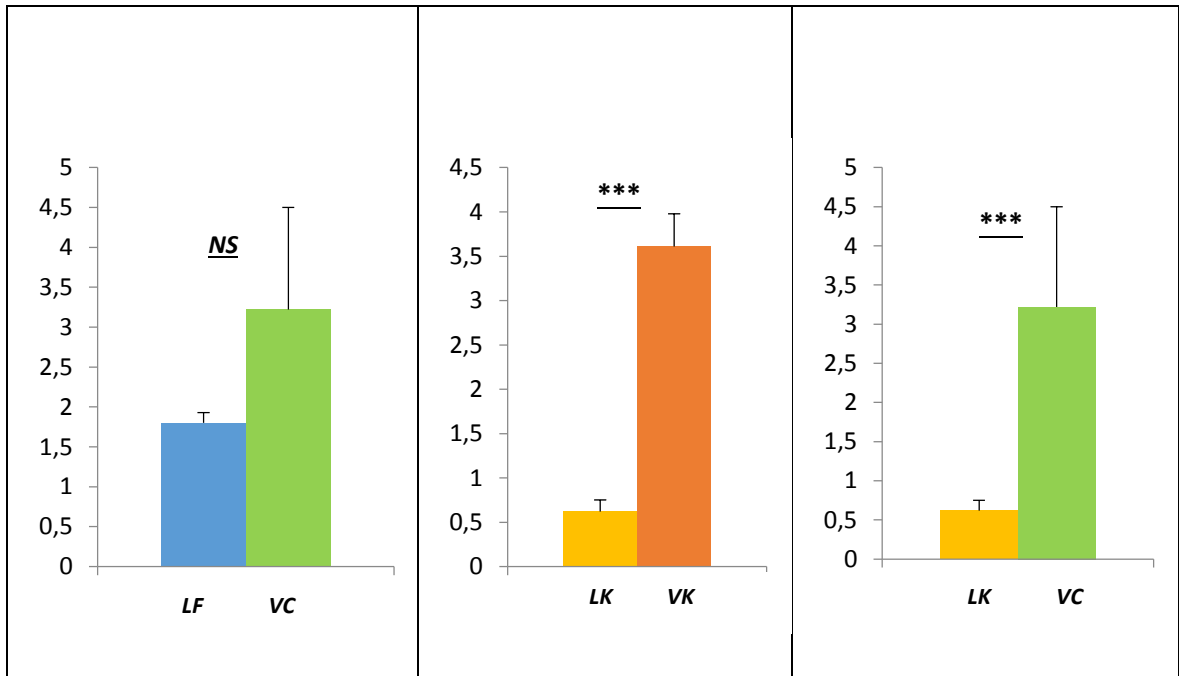


Figure 4.15 : Concentrations du cholestérol total dans le liquide folliculaire et le sérum

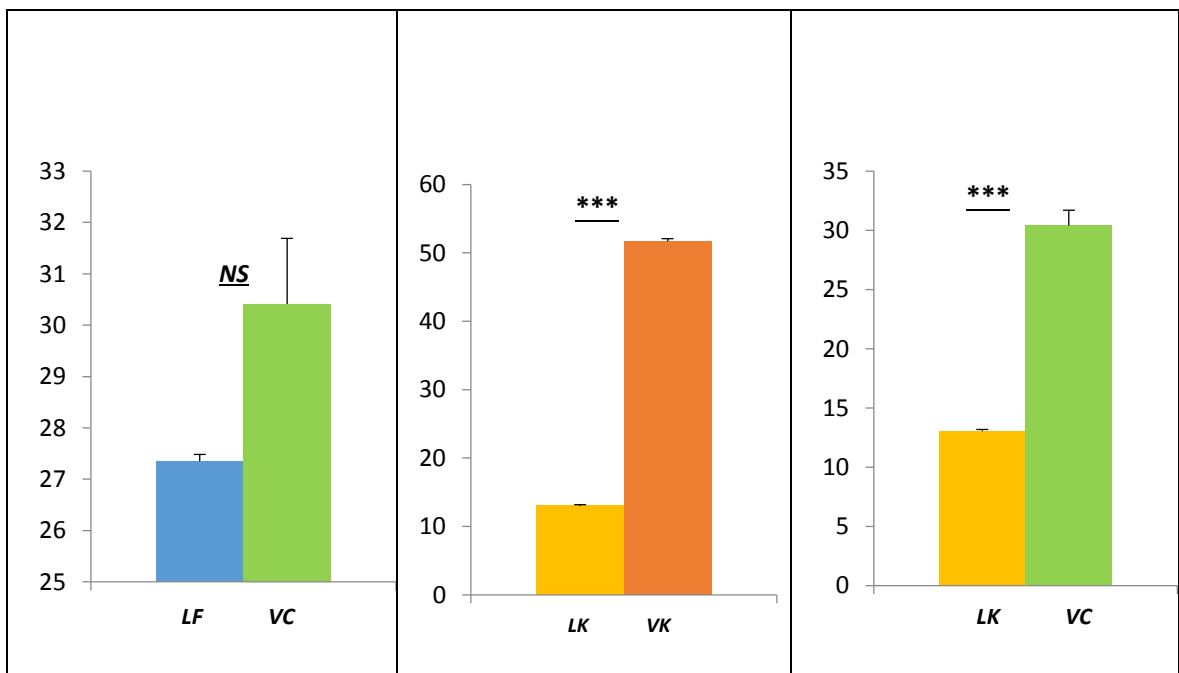


Figure 4.16 : Concentrations du cortisol dans le liquide folliculaire et le sérum

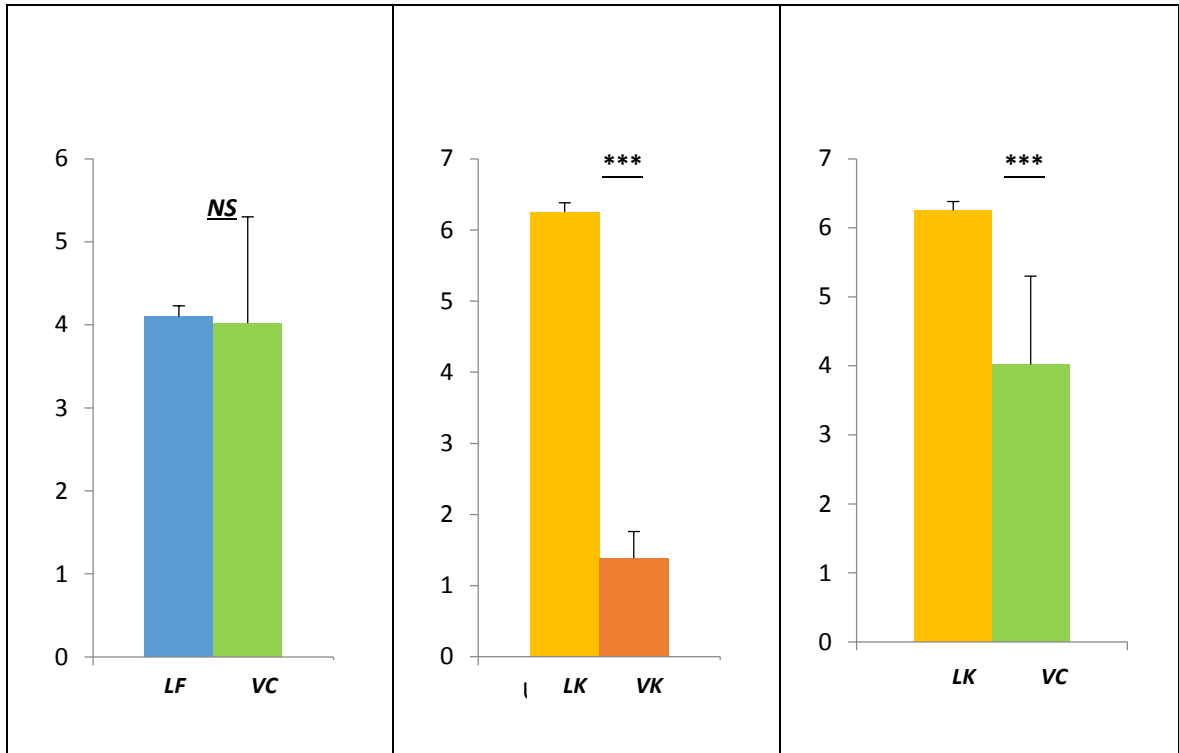


Figure 4.17 : Concentrations d'urée dans le liquide folliculaire et le sérum

4.3 Discussion

Dans cette présente étude, nous allons décrire, dans un premier temps, l'aspect clinique des kystes ovariens (fréquence, diagnostic et traitement). Dans un second temps, on va déterminer le profil métabolique associé aux KO. Enfin, nous allons étudier l'équilibre entre le compartiment vasculaire et le liquide folliculaire en certains métabolites notamment ceux dont on les a noté avec des valeurs différentes par rapport aux normes admises, dans le cas du KO.

La fréquence du KO est de 11.9 % sur l'ensemble de 504 animaux provenant de différentes exploitations. Ce résultat est très proche de celui de Brito et Palmer [11] et reste inférieur à celui de Gümen et al. [60]. La divergence des résultats est expliquée par la différence des méthodes, des moments et critères du diagnostic du KO, du critère animal (race, âge, parité, rang de lactation), du type d'élevage et des durées du suivi.

Notre présente étude a évalué l'efficacité des 03 méthodes de diagnostic du KO chez des vaches laitières. Celles-ci ont comporté (1) le diagnostic du vétérinaire praticien par palpation transrectale (2) l'examen échographique et (3) le dosage sérique de progestérone. Les résultats obtenus montrent que sur les 60 kystes dépistés dans notre étude, les vétérinaires praticiens ont pu identifier 36 KF et 24 KL. En revanche, l'échographie a mené à un diagnostic de 31 KF et 29 KL contre 27 KF et 33 KL identifiés par analyse sérique de la P4. En conséquence, L'échographie a donné une bonne précision du diagnostic du type du KO, et quand elle est combinée à un dosage de P4, le diagnostic est devenu plus précis. Les concentrations de P4 notées sont similaires à celles citées dans les différentes études [47, 268]. D'après ces résultats, nous pouvons supposer que 9/60 (15%) ont reçu un traitement inadéquat du fait du traitement du KF par la PGF2 α , qui est utilisée en général pour induire la lutéolyse. En effet, un mauvais diagnostic du KO conduit le vétérinaire à un mauvais choix thérapeutique à l'origine d'un retard de conception [16]. La probabilité d'une fausse classification du KO est plus grande avec les structures diagnostiquées comme étant des KF, en accord avec les travaux de Leslie et Bosu [268]. Ces résultats réitèrent l'importance du diagnostic échographique et hormonal pour l'identification du type du KO.

Le KL était plus fréquent que le KF. Ce résultat rejoint celui de Leslie et Bosu [268] et diffère de ceux de la littérature [43, 46, 47]. Notre résultat est raisonné par le fait que les KL sont des KF à un stade tardif et que la plainte du propriétaire fait suite aux échecs successifs de l'IA pouvant dépasser plus 100 jours, ce qui permet au KF de se transformer en KL s'il n'est pas traité au moment opportun. Les différences des résultats sont liées aux critères cités auparavant.

La plupart des cas du KO ont été associés avec l'anoestrus, en conformité avec les données précédentes [35, 268, 404, 405]. Il est donc très difficile voire impossible de classer les types du KO en se basant sur l'aspect clinique de l'animal affecté et une seule palpation transrectale.

Dans cette étude, toutes les vaches atteintes par les KO étaient multipares. Au sein de ces animaux, le pourcentage est plus élevé chez ceux qui sont en 3^{ème} lactation, suivi par ceux qui sont en 4^{ème} lactation. Notre résultat est en accord avec

celui de Nelson et al. [207] et assure davantage le fait que les KO sont associés avec une augmentation de la production laitière [173, 174].

Parmi les KO, 91.66% sont uniques et 8.33% sont multiples. Une fréquence des ovaires polykystiques supérieure à la nôtre était notée par Silvia et al. [16]. L'ovaire droit est plus affecté que l'ovaire gauche et l'atteinte simultanée des 2 ovaires est estimée par une fréquence de 5%. Ceci est conforme avec les études menées par différents auteurs [62,406], et avec les résultats de notre travail en post-mortem.

La race Holstein-Frisian est plus atteinte par les KO suivie par la Montbéliarde. Ce fait est cohérent de ce qui a été rapporté dans la bibliographie [11]. Cependant, compte-tenu que la plupart des vaches examinées sont des Holstein, nous ne pouvons pas en tirer une conclusion dans ce travail. Le BCS n'a pas différencié entre les groupes d'animaux (cyclés et kystiques). Les valeurs moyennes obtenues sont admises dans l'intervalle de référence qui est de 2.5 – 3.4 [407, 408]. Ce résultat rejoint ceux de Vanholder et al. [6] et Yousefdoost et al. [158]. Opsomer et al. [405] ont rapporté que le BCS au vêlage ne présente aucun risque de développement des KO. Par contre, l'augmentation de la production laitière en début de lactation est considérée comme étant un facteur prédisposant à la formation du KO [173]. Dans cette étude, aucune association entre la production laitière et le KO n'a été enregistrée. Il est important de signaler que notre protocole expérimental a visé des vaches kystiques qui ont plus de 60 jours PP et donc, en dehors de la période du risque. Les kystes ovariens étaient fréquents en hiver et en été, respectivement. Cela est en accord avec le résultat de Baitlesov et al. [235] et López-Gatius et al. [173] et avec notre étude en post-mortem. Le manque d'exercice, de minéraux et vitamines en hiver et le stress thermique en été sont les principaux facteurs favorisant l'apparition des KO.

Dans notre travail, nous avons comparé les méthodes classiques du traitement du KO avec l'utilisation d'un dispositif vaginal de progestérone mis en place pendant 9 jours suivi d'une injection de PGF_{2α}, un jour avant le retrait du dispositif (La spirale vaginale). Plus particulièrement, Cette comparaison est réalisée dans le but de tester l'efficacité de l'association PRID-PGF_{2α} qui n'est pas utilisée par les vétérinaires praticiens dans le traitement du KO malgré ses effets mondialement reconnus [174, 397]. Les résultats obtenus montrent que la réponse au traitement du KO par un analogue de la GnRH est estimée par un taux de retour en chaleur

de 53.33% et un taux de réussite en 1^{ère} insémination artificielle de 50%. Ce résultat est conforme avec les données de la littérature [80, 409]. Cependant, en comparant ce type de traitement avec l'association PRID-PGF2 α , cette dernière présente un taux de retour en œstrus plus élevé (70%) avec un délai plus court. Ce taux est similaire à celui noté par Crane et al. [174]. En revanche, le taux de réussite en 1^{ère} insémination artificielle est inférieur à celui noté lors de l'administration de l'analogue de la GnRH (37.5% VS 50%). Ce taux est cohérent avec les travaux de Iwakuma et al. [278].

L'administration d'un analogue de la PGF2 α s'est révélée très efficace pour le traitement des kystes lutéiniques par rapport à l'association PRID-PGF2 α , puisqu'un fort pourcentage des vaches traitées avec cette substance lutéolytique ont manifesté un œstrus, au bout de 3 jours suivant le traitement. Bien que les taux de retour en chaleur entre les 02 groupes se rapprochent (86.66%, PGF2 α ; 80%, PRID-PGF2 α), le taux de réussite à la 1^{ère} insémination artificielle a atteint 61.53% chez les animaux traités par Prostavet contre 37.5% chez ceux traités par l'association PRID-PGF2 α . Un taux similaire de réussite en 1^{ère} IA, suite à un traitement avec un analogue de PGF2 α a été rapporté par Leslie et Bosu [268].

Concernant le groupe d'animaux qui n'a pas subi un traitement, nous n'avons noté aucune manifestation d'œstrus. A cet effet, nous supposons l'absence d'une régression spontanée et le maintien de l'état d'anovulation. Cela peut être du à la persistance des conditions qui ont conduit à la formation du KO. En fait, la régression spontanée concerne généralement les structures qui se forment avant la première ovulation PP. D'ailleurs, ces KO font partie de l'évolution physiologique du follicule dans les 50 premiers jours du PP [173, 410]. De plus, les chances d'un follicule en croissance à devenir kystique sont fortement accrues en présence d'un kyste ovarien (Turnover of cyst) [32, 70].

Les échecs thérapeutiques peuvent être attribués à l'état de dégénérescence des parois kystiques qui rend le KF incapable de répondre à l'hormone LH ou à l'insuffisance des récepteurs à LH au niveau de ces parois [411]. Isobe et al. [246] ont rapporté que l'augmentation de la vascularisation des KO par rapport aux follicules normaux reflète un mécanisme compensateur d'un apport sanguin insuffisant au niveau des structures kystiques. Selon Hugel et Humke [412], le stade

du post-partum, l'âge et la production laitière n'ont pas d'effet sur la réussite du traitement.

Au sein de la partie suivante, nous allons décrire le profil métabolique des vaches kystiques tout en faisant une comparaison avec les vaches cyclées et les données de la bibliographie.

La période du pic de lactation est associée avec la perte de l'état corporel et une balance énergétique négative, étant donné que les besoins nutritifs pour l'entretien et la lactation excèdent la capacité de la vache de consommer l'énergie dans l'alimentation et que 80% du glucose est réparti pour cette fonction [403, 413]. En outre, le tissu adipeux est fortement mobilisé, augmentant les taux circulants des AGNE et du BHB dont la sévérité du BEN est fortement corrélée avec ces niveaux. En revanche, les concentrations sanguines de l'insuline et de l'IGF1 diminuent, compromettant à leur tour, la sécrétion de GnRH et de LH. Tous ces changements métaboliques augmentent le risque de cétose, de stéatose hépatique, d'acidose et de déplacement de la caillette [340, 403].

Dans cette présente étude, les prélèvements sont effectués vers la fin du pic de lactation, à partir de la période de mise à la reproduction. En cette période, les animaux sont supposés être rétablis d'une BEN et d'une perte du BCS, ayant pour résultat, un rétablissement des niveaux sanguins des différents métabolites (AGNE, BHB, glucose, insuline, IGF1). De ce fait, ce travail est réalisé dans le but d'étudier la relation entre le statut métabolique et la persistance et/ou la formation du KO chez des vaches laitières qui ont plus de 60 jours PP. Afin d'interpréter les paramètres biochimiques, un suivi de l'activité des enzymes hépatiques semble indispensable pour révéler tout dysfonctionnement hépatique pouvant modifier le métabolisme de l'animal.

Les vaches kystiques sont caractérisées par de faibles taux de glucose que les vaches cyclées bien que les valeurs notées soient incluses dans l'intervalle de référence. Notre résultat rejoint ceux notés par Braw-Tal et al. [85] et Khan et al. [17]. Dans le même contexte, Forshell et al. [414] et Vajdi et al. [415] ont rapporté que les niveaux du glucose étaient significativement différents entre les animaux qui deviennent gestants après la 1^{ère} IA et ceux dont la 1^{ère} IA a échoué. Cependant, il semblerait que la glycémie soit associée à de l'infertilité quand elle est très

nettement en dessous de ses valeurs usuelles [416]. De plus, certains auteurs considèrent la glycémie comme un indicateur peu sensible du statut énergétique en raison de son homéostasie [417, 418]. De ce fait, le dosage de l'insuline associé à la glycémie pourrait être plus intéressant [419].

Les taux d'insuline étaient significativement différents entre les groupes d'animaux VC et VK. L'insulinémie chez ces dernières était en dessous des limites normales admises dans l'intervalle de référence préalablement établi. Notre résultat rejoint celui de Vanholder et al. [6] et Hein et al. [340]. Dans une autre étude, Obese et al. [350] ont noté que les concentrations d'insuline étaient plus élevées chez les animaux qui ont eu une reprise précoce de la cyclicité par rapport à ceux qui avaient un retard. L'importance de l'insuline dans la maturation finale et l'ovulation du follicule [349], et dans la stimulation de la stéroïdogénèse [420] était largement admise. L'insuline stimule également l'expression du récepteur de la LH dans les cellules de la granulosa, principalement et indirectement par la stimulation du récepteur de l'IGF1 [6, 346]. Par conséquent, l'hypoinsulinémie pourrait non seulement réduire la production d'androgènes et d'œstradiol, mais altère également la capacité du follicule à acquérir des récepteurs de LH, ce qui compromet le développement et l'ovulation et favorise la persistance de celui-ci en tant qu'une structure anovulatoire [340]. Des études précédentes ont révélé que la sécrétion d'insuline est altérée même après l'administration du glucose chez les vaches kystiques [405]. En revanche, quoique ce phénomène de 'Résistance à l'insuline' soit lié au syndrome des ovaires polykystiques qui est associé avec des désordres métaboliques notamment le diabète [421], les auteurs n'ont pas pu démontrer une telle relation dans le cas du KO chez la vache [405]. Plus récemment, Hein et al. [340] ont noté une faible expression des récepteurs de l'insuline (IR et IRS1) chez les vaches kystiques.

Cette étude n'a révélé aucune différence significative dans les concentrations du cholestérol total, des protéines totales, des triglycérides, de la créatinine ainsi que l'activité des enzymes hépatiques (ASAT-ALAT-GGT) entre les groupes d'animaux. Des résultats similaires ont été notés par Vajdi et al. [415], Khan et al. [17], Ghoneim et al. [344]. Les valeurs que nous avons trouvées concordent assez bien avec les données de la littérature.

Les valeurs de l'urée entre les deux groupes VC et VK étaient significativement différentes. En effet, l'urémie était en dessous des normes admises chez les VK. A ce sujet, plusieurs auteurs ont étudié les conséquences d'une urémie basse sur la fonction de reproduction chez les vaches laitières ; Miettinen [422] a noté que la fonction de reproduction est altérée dès que l'urémie est inférieure à 2.5 mmol/l. Selon Paragon [423], un déficit protéique global retarde la survenue du 1^{er} œstrus et de la 1^{ère} ovulation PP et diminue le taux de réussite en insémination artificielle. Wolter [424] et Enjalbert [425] ont affirmé que les troubles de la reproduction n'apparaissent qu'en cas de déficit azoté intense et prolongé bien que ce dernier soit rare. Kaur et Arora [426] ont rapporté qu'une urémie basse peut traduire un manque d'ammoniaque dans le rumen. Ce dernier résulte d'un niveau de protéines de la ration insuffisant. D'après ces auteurs, la faible ingestion provoquée par un manque d'azote dégradable des régimes est connue depuis longtemps chez les ruminants et avait été particulièrement bien étudiée avec des fourrages pauvres en azote et peu digestibles. Suite à cette carence, la protéosynthèse microbienne diminue, ainsi que l'appétit des animaux, la digestibilité de la ration et l'efficacité de l'utilisation de l'énergie métabolisable. Il en résulte une baisse de la glycémie et de l'insulinémie inhibant la sécrétion hypothalamique de GnRH, la sécrétion pulsatile de LH et la synthèse de progestérone. La pathogénie est alors similaire à celle d'un déficit énergétique, avec son cortège de sous-production, d'amaigrissement, de risques de cétose et d'infertilité [426, 450]. Notre résultat diffère de celui noté par Yousefdoost et al. [158] qui ont trouvé que les VK ont des taux élevés d'urée par rapport aux VC. La divergence des données peut être expliquée par le régime alimentaire reçu par les vaches prélevées, le moment du prélèvement par rapport au repas et le stade physiologique de l'animal.

Les concentrations moyennes du cortisol sont significativement plus élevées chez les vaches kystiques par rapport aux animaux cyclés bien que les valeurs s'inscrivent dans les limites normales admises. Notre résultat est conforme avec celui de Khan et al. [17] chez les buffles et diffère de ceux de Silvia et al. [52], Cairolì et al. [368] et Probo et al. [80] chez les bovins et Ghoneim et al. [344] et El-Bahr et al. [427] chez les camelins. Cette divergence peut être expliquée par la différence des conditions d'élevage, des facteurs climatiques, du stade de lactation et de la ration distribuée aux animaux. A ces critères, on peut ajouter aussi la manière de développement des KO (spontanés ou induits par injection d'ACTH). D'après

Dobson et Smith [223], tout changement de l'environnement (surtout en PP) peut être à l'origine d'un stress qui augmente les niveaux du cortisol. Ce dernier induit une diminution de la sécrétion d'œstradiol et une élévation de la progestéronémie. Ainsi, les concentrations en LH et en FSH sont diminuées par rétrocontrôle négatif, le pic pré-ovulatoire de LH n'est pas observé et un KO se forme [223].

Les taux sériques du BHB étaient significativement élevés chez les vaches kystiques bien que ses valeurs en général se trouvent dans les normes admises. Vanholder et al. [13] et Jackson et al. [198] ont rapporté des résultats similaires. Selon Probo et al. [80], cela peut indiquer une légère mobilisation des réserves lipidiques. Malgré l'implication du BHB dans la pathogénie du KO [8, 192], le résultat de ce présent travail n'a noté aucune influence de ce paramètre dans le maintien du KO.

La partie suivante s'intéresse à la comparaison du profil métabolique entre le sang et le liquide folliculaire dans le cas physiologique et pathologique (KO).

Il est bien connu que le liquide folliculaire joue un rôle important dans l'activité métabolique, en association avec les cellules folliculaires. Cette activité, de même que les propriétés de la barrière hémato-folliculaire peuvent changer d'une manière significative durant les phases du développement folliculaire et en cas de pathologies ovariennes [344]. Les changements des concentrations de certains métabolites (glucose, urée, cholestérol, triglycérides, albumine, protéines totales), ainsi que l'activité des enzymes lysosomiales dans le liquide folliculaire ont été impliqués dans l'intégrité du métabolisme et de la membrane des cellules folliculaires, qui pourraient refléter le statut du follicule [336]. Cependant, l'impact des modifications des concentrations des composants d'intérêt biologique dans le cas du KO n'a pas été bien élucidé. De ce fait, il est nécessaire de déterminer les concentrations des métabolites les plus communs dans le liquide folliculaire dans le cas physiologique et pathologique, mais il est important de savoir aussi si ces concentrations diffèrent de celles du sang. Par conséquent, le but de cette partie est d'étudier l'équilibre en certains métabolites (glucose, urée, protéines totales, cortisol, cholestérol, insuline) entre le compartiment vasculaire et le liquide folliculaire chez les animaux cyclés et kystiques.

Les concentrations en glucose dans le liquide folliculaire étaient significativement inférieures à celles du sérum. Ce résultat rejoint ceux de Leroy et al. [323] et Aller et al. [336] chez les bovins, Arshad et al. [352] chez les buffles, et El-Bahr et al. [427] chez les camelins. De même, Leroy et al. [323] ont noté une bonne corrélation entre les 02 groupes et ils ont suggéré par conséquent que l'hypoglycémie peut réduire le taux de glucose intrafolliculaire. En effet, il est utile de rappeler que le glucose contenu dans le liquide folliculaire provient de la glycolyse ayant lieu dans les cellules de la granulosa et de l'afflux de ce métabolite du plasma vers le follicule [323, 344]. De ce fait, nous pouvons interpréter les faibles taux du glucose dans le cas du KO non seulement par les changements post-mortem qui peuvent induire la transformation du glucose en lactate par la glycolyse anaérobie mais aussi par la diminution de l'afflux du glucose sanguin. Ceci est cohérent avec les résultats de Acar et al. [337] et Sutton-McDowall et al. [403] dans des expérimentations sur des femelles cyclées. Récemment, Zhao et al. [421], étudiant les changements du microenvironnement du follicule dans le cas du syndrome des ovaires polykystiques chez la femme, ont noté une augmentation de la glycolyse avec une diminution de l'activité de la LDH. Nous supposons donc qu'une étude similaire chez les vaches kystiques pourrait éclaircir la pathogénie du KO surtout par la technique Ovum-Pick-Up qui nous permet d'éviter les changements post-mortem.

Le taux d'urée dans le liquide folliculaire n'a pas différencié de celui contenu dans le sérum des animaux sains, en accord avec le résultat de Leroy et al. [323]. En revanche, nous avons noté une différence significative entre les 02 liquides biologiques chez les animaux kystiques et entre le liquide kystique et le sérum des animaux cyclés. En fait, dans le cas physiologique, plusieurs travaux ont noté des concentrations plus élevées d'urée dans le liquide aspiré à partir des follicules en développement par rapport au sérum, probablement dues à un transport actif ou une production locale d'urée par les cellules folliculaires [336, 365]. De ce fait, les fortes concentrations enregistrées dans le liquide kystique peuvent être la conséquence d'une production aberrante dans les parois du KO et/ou d'un transport actif excessif dû à une altération de la barrière hémato-folliculaire (qui peut expliquer les faibles taux d'urée dans le sérum des vaches kystiques), favorisés par l'hypoglycémie enregistrée chez les animaux kystiques. Ceci exige davantage

d'autres recherches (notamment le mécanisme du transport de l'urée du sang vers le follicule, son métabolisme dans les parois folliculaires dans les cas physiologique et pathologique ainsi que l'intégrité de la barrière hémato-folliculaire dans le cas du KO).

Dans cette présente étude, les concentrations en protéines totales du sérum étaient significativement plus élevées que celles du liquide folliculaire. Notre résultat est conforme avec celui de Leroy et al. [323] et Aller et al. [336]. Selon Leroy et al. [323], la concentration moyenne en protéines totales notée dans le liquide folliculaire représente 75-80% de celle du sérum. Wise [366] a déterminé une corrélation élevée entre les teneurs en protéines totales dans ces 02 liquides et a rapporté qu'une grande partie des protéines contenues dans le liquide folliculaire provient du sérum, probablement par un processus analogue à la filtration. Contrairement au dosage sérique, l'analyse statistique a révélé une différence significative entre la teneur en protéines dans les liquides folliculaire et kystique. Puisque les protéines du liquide folliculaire proviennent du sang et des sécrétions synthétisées par le follicule, un changement des taux des protéines dans le liquide kystique peut refléter une modification des capacités de synthèse, du métabolisme et de la structure des parois folliculaires qui peuvent avoir un rôle dans la pathogénie des KO [240, 242]. Les études réalisées par ces derniers auteurs ont noté non seulement la différence dans la teneur en protéines totales mais aussi la qualité de ces protéines. Chez la vache, Maniwa et al. [242] ont identifié 08 protéines additionnelles dans le liquide kystique qui sont BMFA, EAF, MeS, VEGF, GAPDH, HSP70, BLG et SD, alors que chez la truie, Sun et al. [240] ont noté une différence des taux de RBP-4 et de transferrine qui sont les indicateurs des capacités de synthèse et du statut métabolique du follicule, principalement dans les cas pathologiques. Toutes ces protéines sont impliquées dans l'étiopathogénie du KO [240, 242]. Isobe et Yoshimura [164] et Braw-Tal et al. [85] ont observé la présence des cellules apoptotiques dans les couches des cellules granuleuses qui disparaissent graduellement (résultat prouvé dans notre étude microscopique). Par conséquent, les protéines intracellulaires peuvent passer des cellules dégénérées de la granulosa vers le liquide folliculaire. Cependant, la possibilité que ces protéines soient transportées par le sang ne peut pas être éliminée. Il reste à déterminer la source exacte de ces protéines ainsi que le mécanisme par lequel

elles se retrouvent en grande quantité dans le liquide folliculaire dans le cas du KO [242].

Les concentrations du cholestérol dans le liquide folliculaire sont significativement inférieures à celles contenues dans le sérum. Aller et al. [336] et Hudson et al. [428] ont noté des résultats similaires. Chez les camelins, El-Bahr et al. [427] ont rapporté que les taux du cholestérol dans le sérum étaient 3.5 fois plus élevés que ceux du liquide folliculaire. Par la suite, ils ont suggéré que le cholestérol sanguin n'est pas le métabolite majeur disponible pour la stéroïdogénèse. En effet, les cellules de la granulosa possèdent un grand stock d'esters du cholestérol qui sont capables de fournir le cholestérol pour la fonction ovarienne [93, 427]. De plus, le taux du cholestérol est directement lié à l'état énergétique de l'animal. En fait, la présence du glucose dans le tissu ovarien est importante dans l'incorporation du carbone d'acétate dans le stérol. De même, les études chez les ruminants ont prouvé que le métabolisme du glucose et du cholestérol sont fortement liés [358]. Dans notre travail, nous avons noté des résultats différents entre les dosages sanguin et intrafolliculaire. Nos résultats ont montré une différence significative dans les taux du cholestérol entre le liquide folliculaire et kystique tandis que dans le sérum, aucune différence statistique n'a été révélée entre les animaux cyclés et kystiques. Cela peut être expliqué par le microenvironnement du follicule kystique qui associe la dégénérescence progressive des cellules de la granulosa qui contiennent les esters du cholestérol avec les faibles taux du glucose notés dans le liquide kystique. Cependant, la possibilité d'une altération dans le mécanisme du transport sanguin n'est pas exclue.

En addition, selon Rabiee et Lean [358], la consommation du cholestérol et du glucose peut être influencée par les hormones trophiques, notamment l'insuline et l'IGF1. Puisque ces éléments sont critiques pour le développement des structures et des fonctions ovariennes, leur présence en concentrations basses dans le sang peut affecter l'absorption transovarienne du glucose et du cholestérol ainsi que la stéroïdogénèse. Dans notre étude, le dosage sérique a révélé une différence statistique dans les taux d'insuline entre les animaux cyclés et kystiques. En revanche, les valeurs de l'insuline dans les liquides folliculaire et kystique étaient similaires. Les mêmes résultats ont été rapportés par Hein et al. [340]. Ces derniers ont noté en plus, des changements de la cascade de signalisation de l'insuline au

niveau ovarien. Ces changements sont relatifs à la faible expression des récepteurs de l'insuline dans les cellules de la granulosa. Cependant, Vanholder et al. [6], dans une approche similaire, n'ont pas pu montrer une telle altération sauf dans le cas du kyste qui est fonctionnellement progestérone-actif dont ils ont révélé une modification de l'expression du récepteur de LH et une altération des rapports entre les différents récepteurs de l'insuline et de l'IGF1.

Le test statistique n'a révélé aucune différence statistique entre les taux du cortisol dans le liquide folliculaire et le sérum. Ce résultat prouve que l'origine du cortisol intrafolliculaire est le sérum car l'ovaire ne peut pas produire les glucocorticoïdes *in vivo* [429]. Contrairement au dosage sérique qui a montré des niveaux élevés du cortisol chez les animaux kystiques par rapport aux vaches cyclées, les concentrations du cortisol dans le liquide folliculaire et kystique étaient relativement faibles. En effet, il est bien connu que les glucocorticoïdes exercent des effets inhibiteurs sur la fonction de reproduction par altération de la sécrétion de la LH par l'antéhypophyse. Cependant, les études concernant l'action directe de ces glucocorticoïdes sur le follicule ovarien sont controversées. Spicer and Zinn [430] n'ont trouvé aucun rôle actif du cortisol sur les fonctions du follicule. De même, Peter et al. [431] n'ont pas pu prouver l'effet du cortisol sur l'activité aromatasase. Par la suite, Kawate et al. [367] ont pu révéler l'action inhibitrice du cortisol sur la synthèse des œstrogènes et sur le nombre de récepteurs de la LH *in vitro*. De plus, Spicer and Chamberlain [331] ont montré que le cortisol à des concentrations physiologiques peut directement influencer la fonction ovarienne chez les bovins, en particulier la production d'androsténédione par la thèque interne. Sunak et al. [432], dans une autre approche (*in vitro*), ont rapporté que l'inactivation du cortisol par la 11 b-hydroxysteroid déshydrogénase (11 b-HSD) dans les cellules granuleuses du porc était significativement diminuée et ils ont suggéré que les composants qui règlent le métabolisme du cortisol par la 11 b-HSD peuvent jouer un rôle dans le développement du KO. Enfin, Amweg et al. [429] ont confirmé *in vitro* l'expression des récepteurs de l'ACTH dans l'ovaire de la vache, et ils ont noté après identification du type que l'activité de la 11 b-HSD1 qui active la corticostérone en cortisol était élevée dans le KO que dans le follicule tertiaire. Cela indique un rôle local du cortisol dans la pathogénie du KO. D'après ces derniers, puisque l'ovulation est un phénomène inflammatoire caractérisé par la synthèse des interleukines et des prostaglandines, une libération massive des glucocorticoïdes

anti-inflammatoires limite ce processus dans l'ovaire. Cependant, des situations extrêmes peuvent affecter le mécanisme normal de l'ovulation et changer le cycle œstral de l'animal. Puisque des fortes concentrations en glucocorticoïdes (≥ 36 ng/ml) étaient nécessaires afin d'inhiber 50% de l'activité aromatasase ainsi que l'augmentation du nombre des récepteurs de la LH dans les cellules de la granulosa de la ratte *in vitro* [331], nous supposons que les valeurs normales ou diminuées du cortisol dans le liquide kystique ne sont pas impliqués dans le développement du KO. Cela est supporté par le fait que la plupart du cortisol ($> 90\%$) se lie aux protéines plasmatiques, principalement à la transcortine ou CBG (cortisol-binding globulin) [430, 433]. La présente étude supporte le concept que le rôle du cortisol dans la pathogénie du KO se limite à l'inhibition de la sécrétion de la LH par l'antéhypophyse. Cette inhibition peut aussi être le résultat de la réduction de la synthèse des œstrogènes. La dernière peut, dans notre cas, être due à la dégradation progressive des couches de la granulosa. Pour cela, ce travail nécessite d'être complété par la réalisation d'autres expérimentations notamment celles qui permettent de déterminer le nombre des récepteurs de cortisol, d'œstrogènes et de LH ainsi que l'activité aromatasase dans des follicules kystiques très jeunes, de préférence *in vivo*.

CONCLUSION

L'examen échographique combiné à un dosage de la progestérone constitue le meilleur moyen diagnostique du type du KO.

Cette étude a montré que le KL prédomine et que la plupart des vaches kystiques étaient en 3^{ème} lactation. Le comportement le plus observé sur ces vaches était l'anoestrus.

Les résultats du traitement du kyste ovarien montrent que la PGF2 α reste la molécule de choix pour le traitement du KL. Quant à l'association PRID-PGF2 α , elle a confirmé ses effets thérapeutiques pour le traitement des 02 types du KO. Cependant, étant donné les inconvénients du dispositif liés à son coût et les désavantages de son application et son retrait, cela explique peut être son utilisation très limitée voire quasiment inexistante dans le traitement du KO sur le terrain algérien et justifie pourquoi les vétérinaires préfèrent les molécules de base habituelles, GnRH et PGF2 α . En revanche et malgré tout, l'association PRID-

PGF2 α peut constituer un traitement alternatif surtout quand le vétérinaire se doute du type du KO.

A part les déséquilibres hormonaux, les désordres métaboliques sont impliqués dans la formation et/ou la persistance des KO en dehors de la période du début de lactation ou 'période de danger'. Ceci est soutenu par la fréquence élevée des KO chez des vaches laitières qui ont plus de 60 jours PP. Dans cette étude, les KO étaient associés avec des taux faibles de glucose, d'insuline et d'urée ainsi qu'avec des niveaux élevés de cortisol. Quoique nous ayons essayé d'expliquer l'implication de chacun de ces paramètres dans l'étiopathogénie du KO, le mécanisme exact reste à ce jour obscur. Le rôle de l'alimentation ne peut pas être négligé dans les changements des niveaux de ces métabolites : Le déficit en azote est généralement le signe d'une ration insuffisante quantitativement, et il est aggravé par le manque d'énergie. De ce fait, la biochimie est indispensable pour déterminer l'origine du déséquilibre alimentaire.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Cette présente étude a permis de faire le point sur les kystes ovariens chez la vache dans la capitale de l'Algérie d'autant plus que le recensement des différentes anomalies de l'appareil génital a démontré que le KO est la pathologie la plus dominante à l'abattoir d'El-Harrach. Les résultats de l'étude macroscopique ont permis de remarquer aussi que l'infection utérine est largement répandue au sein de nos élevages et qu'en absence des moyens pour diagnostiquer précocement une gestation, la fréquence des femelles gravides réformées est élevée.

L'examen histopathologique vient confirmer son importance dans le diagnostic du type du kyste ovarien en ex-vivo.

L'étude immunohistochimique a permis d'élucider en partie la localisation de certains facteurs pouvant être impliqués dans la pathogénie des KO notamment la protéine cytosquelettique (vimentine), La molécule angiogénique (VEGF), le facteur anti-apoptotique (Bcl2) ainsi que l'inhibine α .

L'emploi des indicateurs métaboliques dans la compréhension et l'exploration du KO est d'un grand intérêt. Certes, la biochimie est un outil facilement disponible dans les laboratoires privés et étatiques, les vétérinaires trouvent la difficulté de l'utiliser en pratique courante, peut être par manque de matériel et du local nécessaires, mais aussi le coût de cette procédure qui limite son adoption sur le terrain.

L'analyse des facteurs associés aux kystes ovariens a permis de démontrer un effet significatif de la saison, de la race ainsi que le rang du vêlage sur la fréquence de cette pathologie.

L'identification du type du KO est toujours le défi qui épuise les vétérinaires praticiens par les échecs des traitements choisis et le retard de la reprise de la cyclicité et de la gestation. Les répercussions économiques du KO permettent de comprendre l'intérêt de l'échographie et le dosage de la progestérone qui ont une valeur inestimable dans le diagnostic d'une telle pathologie et ils ont besoin d'être réintroduits comme des outils diagnostiques communs pour tous les vétérinaires praticiens.

Il est clair que la nutrition soit directement liée à la fonction de reproduction chez la vache laitière. L'aliment quoiqu'il en soit distribué, en excès ou en quantité déficiente, il est sûrement capable d'influencer le statut de reproduction. Le problème de base est que le degré d'excès, d'insuffisance ou du déséquilibre (notamment les carences azotées prolongées) qui perturbe la reproduction ne sera pas déterminé précocement, d'où l'intérêt d'un dépistage précoce. Particulièrement, le dosage de l'urémie et la glycémie a été largement proposé dans l'analyse de routine afin d'évaluer le rapport énergie/protéines.

Les résultats de notre étude permettent d'entrevoir aussi une série d'études en perspectives visant à améliorer davantage les connaissances et les moyens de contrôle concernant la pathologie du KO.

1/ Il serait important de faire une étude s'étalant de la période de tarissement jusqu'à la période à plus 60 jours PP qui apportera plus d'informations sur les changements du BCS, de la production laitière et le degré du BEN. Ça permettra aussi d'établir la relation du KO par d'autres pathologies de production et de reproduction notamment les infections utérines et la cétose.

2/ Il serait aussi primordial d'augmenter le nombre d'animaux, en étendant l'étude sur toutes les régions dont l'effectif bovin prédomine, ce qui contribue à mieux renforcer les résultats obtenus. Le choix des régions caractérisées par des situations écologiques très diverses permettra d'acquérir une meilleure maîtrise des facteurs de risque au sein des différents systèmes de production animale dans le but de construire des modèles de prévention standard adaptés pour chaque région.

3/ Pour mieux cerner la pathologie kystique, l'analyse des autres paramètres métaboliques (AGNE, IGF1), ainsi que certaines vitamines et minéraux (vitamine A et son précurseur, vitamine E, sélénium, l'équilibre phosphocalcique) semble être indispensable.

4/ Il n'en demeure pas moins intéressant de compléter le travail par d'autres investigations à l'échelle moléculaire notamment la PCR afin de caractériser en mieux les ovaires kystiques. De même, des essais qui consistent à localiser par

IHC d'autres facteurs (en relation avec l'immunité, l'apoptose, la prolifération) qui peuvent contribuer à la compréhension de la pathogénie du KO seraient également nécessaires.

5/ Afin d'éviter les changements post-mortem et les variations du statut nutritionnel de l'animal, il serait préférable de faire la ponction du liquide folliculaire par OPU et les prélèvements sanguins sur les mêmes femelles, cyclées et kystiques.

6/ Les traitements homéopathiques sont totalement négligés en Algérie, une étude approfondie qui facilitera l'introduction et même la production de ce genre de traitement sera bénéfique non seulement dans le cas du KO, mais ça permettra aussi d'ouvrir les portes pour l'installation de ce traitement dans d'autres cas pathologiques.

7/ Une autre étude qui portera sur l'efficacité des autres traitements du KO et aurait comme objectif de proposer aux praticiens une stratégie thérapeutique standard s'avère importante.

En général, les conditions et les pratiques d'élevage semblent être favorables au développement de diverses pathologies de la reproduction notamment les KO. De plus, il est difficile de convaincre l'éleveur sur l'intérêt de l'échographie et les différents dosages dans l'amélioration des performances productives et reproductives des vaches. Par conséquent, un programme de sensibilisation des éleveurs sur les pathologies et la conduite à tenir adaptée pour chaque maladie serait bénéfique.

La recommandation générale à présenter est de fournir un programme d'alimentation équilibré et recouvrant tous les besoins nutritifs des vaches laitières ainsi que l'amélioration des conditions d'hygiène au niveau de l'étable (surtout aux alentours du PP) et au niveau des abattoirs.

A la fin, nous supposons que si les kystes ovariens ont été reclassifiés comme étant une manifestation d'un dysfonctionnement métabolique, ceci peut améliorer

la gestion d'élevage par une ration équilibrée et non pas par des traitements médicaux.

APPENDICE A

Liste des symboles et abréviations

3 β -HSD : 3 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase

Ad O-B : Adhérence ovaro-bursale

Ad T-S : Adhérence tub ro-salpinx

AGNE : acides gras non estérifiés

ALC : acide linoléique conjugué

BCL2 : *B-cell lymphoma 2*

BEN : Balance énergétique négative

bFGF : bFibroblast Growth Factor

BHB : β -hydroxybutyrate

BLG : β -lactoglobuline

BMFA : bovine mitochondrial f1-atpase

CJ : corps jaune

CJC : corps jaune cavitaire

CJH : corps jaune hémorragique

CJP : corps jaune persistant

DISC : Death-inducing signaling complex

EAF : erythroid associated factor

EGF : *Epidermal Growth Factor*

ER α : Estrogen Receptor

ER β : Estrogen Receptor β

F : follicule

FAS : Apoptosis Stimulating Fragment

FSHRH : Follicle Stimulating Hormone Releasing Hormone

GAPDH : glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase

GH : Growth Hormone

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

hCG : human Chorionic Gonadotrope

HHG : Hypothalamo-hypophyso-gonadotrope

HSP70 : *HEAT-SHOCK PROTEIN 70*

I A : Insémination artificielle

IGF : Insulin like Growth Factor

IGFBPs : Insulin like Growth Factor Binding Proteins

IR : Insulin Receptor

IRS1 : Insulin Receptor Substrate 1

kat : katal, unité de mesure de l'activité catalytique

kDA : kilo Dalton

KF : kyste folliculaire

KL : kyste lutéal

KO : kyste ovarien

LDH : lactate déshydrogénase

LHRH : Luteinising Hormone Releasing Hormone

LK : liquide kystique

MeS : methionine synthase

MMPs : Matrix metalloproteinases

OPL : ovaires petits et lisses

PP : post-partum

RB : Repeat-breeding

R.I.A : Radio.Immuno.Assay

RP : Rétention placentaire

SD : succinate dehydrogenase Ip subuni

T3 : Triiodothyronine

TCG : Tumeur des cellules de la granulosa

TNF : Tumor Necrosis Factor

VEGF : *Vascular endothelial growth factor*

vWF : *Von Willebrand factor*

APPENDICE B

Liste des annexes

Annexe 1. Fréquence des kystes ovariens selon la bibliographie

Méthode de diagnostic	Nombre d'animaux	% des KO	Référence
Suivi de reproduction	341	18.8	[434]
	1436	13	[435]
	1885	3.8	[436]
	2190	6.4	[437]
	150	18.9	[409]
	6911	8.7	[438]
Examen Post-mortem	357	12.3	[439]
	1113	1.88	[283]
	201	3.5	[284]

Annexe 2. Technique histologique classique

COLORATION TOPOGRAPHIQUE: HEMALUN EOSINE

(Source : Laboratoire de l'anatomie pathologique, ENSV).

I- PRINCIPE :

Coloration des noyaux par une laque aluminique l'hemalun, et des fonds par un seul colorant acide : l'éosine.

II- REACTIFS:

- Hematoxyline de Harris :
 - Eosine à 1.5 .

III- MODE OPERATOIRE.

1. Déparaffiner :

- 5 min xylène
- 7 min xylène

2. hydrater :

- A° 100° → 60s à agitations.
- A° 90° → 60s à agitations.
- A° 70° → 60s à agitations.
- E.D : 03 mn

3 Coloration :

- l'hématine 45 s

-Laver pdt 3 mn à l'eau courante (+sieurs bains).

-Colorer 4 min à l'éosine (pour la différenciation se fait par alcool 70° et 90°).

- Rinçage à E.D

4 Déshydrater :

- A° 70° → 30s à agitations.

- A° 90° → 30s à agitations.

- A° 100° → 02mn à agitations

5 Eclaircir :

--5 min xylène

-5 min xylène

6 Monter : résine (Eukitt)

IV- RESULTATS.

NOYAU : VIOLET ET FOND : ROSE.

Annexe 3. Méthodes d'analyses des paramètres biochimiques

Paramètre analysé	Principe réactionnel	Référence
<i>Glucose</i>	Méthode de Trinder (1969), GOD/POD: mesure du glucose après oxydation enzymatique par la glucose oxydase. L'indicateur colorimétrique est la quinone imine, résultant de l'action catalytique de la peroxydase sur un mélange de 4-aminoantipyrine, phénol et peroxyde d'hydrogène. L'intensité de la couleur observée est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon. La lecture se fait à 505 nm.	3L82-20 et 3L82-40 (2011)
<i>Protéines totales</i>	Méthode de Biuret (Tietz, 1986) : les protéines totales réagissent avec les ions de cuivre en milieu alcalin pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. La lecture se fait à 540nm.	7D73-20 (2011)
<i>Albumine</i>	En milieu tamponné à PH 4.2, le vert de bromocrésol se combine à l'albumine pour former un complexe coloré dont l'absorbance mesurée à 630nm est proportionnelle à la concentration d'albumine (Doumas et Biggs, 1972).	7D54-21 (2011)
<i>Triglycérides</i>	Les triglycérides sont dosés après hydrolyse enzymatique par des lipases. L'indicateur est une quinone-imine formée à partir de peroxyde d'hydrogène, de 4-aminophénazone et de 4-chlorophénol, la réaction étant catalysée par la peroxydase (McGowan et al, 1983).	7D74-20 (2011)

<p><i>Alanine aminotransférase</i></p>	<p>ALT catalyse le groupement amine de l'alanine à l'α-cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate formé est réduit en lactate par le lactate déhydrogénase et le NADH.</p> <p>Le taux de dégradation de la concentration du NADH mesurée est proportionnel à la concentration catalytique de l'enzyme ALT présente dans l'échantillon. La lecture se fait à 340nm (Bowers et al, 1988 ; Sturk et Sanders, 1990).</p>	<p>8L92-20 et 8L92-40 (2011)</p>
<p><i>Aspartate aminotransférase</i></p>	<p>α-oxoglutarate réagit avec L-aspartate en présence d'ASAT pour former du L-glutamate et de l'oxaloacétate. L'indicateur de la réaction utilise l'oxaloacétate lors d'une détermination cinétique avec consommation de NADH. La lecture se fait à 340nm (Bowers et al, 1988 ; Sturk et Sanders, 1990).</p>	<p>7D81-21 (2011)</p>
<p><i>Gamma glutamyl transférase</i></p>	<p>La GGT catalyse le transfert du groupement gamma-glutamyl de L-gamma-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide en glycyglycine en libérant 3-carboxy-4-nitroanilide (Theodorsen et al, 1976).</p>	<p>7D65-21 (2011)</p>
<p><i>Bilirubine totale</i></p>	<p>Réaction basée sur la formation de deux azobilirubines à partir d'une molécule de bilirubine en présence d'un agent diazotant (le plus courant est l'acide sulfanilique diazoté) : Principe de diazoreaction (Jendarassik et Grof, 1938 ; Doumas et al, 1985).</p>	<p>6L45-20 et 6L45-40 (2011)</p>
<p><i>Phosphatases alcalines</i></p>	<p>En milieu alcalin, PAL catalysent l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate en p-nitrophénol et phosphate. La vitesse d'apparition du p-nitrophénol, suivie par la variation de l'absorbance à 404nm est proportionnelle à l'activité PAL (Tietz et al, 1983).</p>	<p>7D55-20 et 7D55-30 (2011)</p>
<p><i>Cholestérol total</i></p>	<p>Les esters de cholestérol sont hydrolysés par la cholestérol estérase qui les décompose en cholestérol et en AGL. Le cholestérol libre et celui initialement présent sont oxydés par la cholestérol oxydase pour former un composé (quinoneimine) quantifié à 500nm (Allain et al, 1974).</p>	<p>7D62-21 (2011)</p>

<i>Urée</i>	L'uréase hydrolyse l'urée en ions carbonate et ammonium. Ces derniers forment avec le chlore et le salicylate un complexe coloré bleu-vert. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en urée (Bernard, 1989).	7D75-20 et 7D75-30 (2011)
<i>Créatinine</i>	Réaction en milieu alcalin entre la créatinine et l'acide picrique avec formation d'un complexe coloré (Labbé et al, 1996).	7D64-20 (2011)
<i>BHB</i>	En présence du NAD, le BHB est converti en acétoacétate et NADH à pH 8.5 par B-hydroxybutyrate- déshydrogénase. Le NADH libéré réagit en présence de la diaphorase pour produire une couleur à 505 – 520 nm (Larsen et Nielsen, 2005).	2440-058 (2011)

Annexe 4. Kits de dosage des hormones stéroïdiennes

Annexe 5. Technologie de l'électrochimiluminescence

Annexe 6. Kits de dosage du cortisol et d'insuline

Annexe 7. Description des fermes et nombre et incidence des KO dans chaque ferme

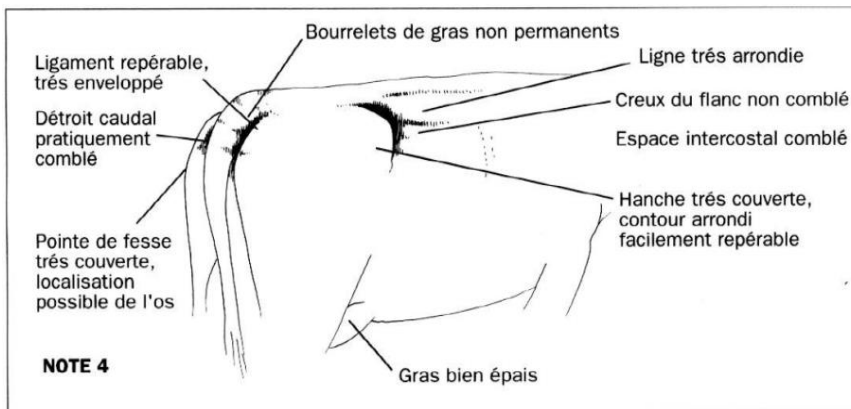
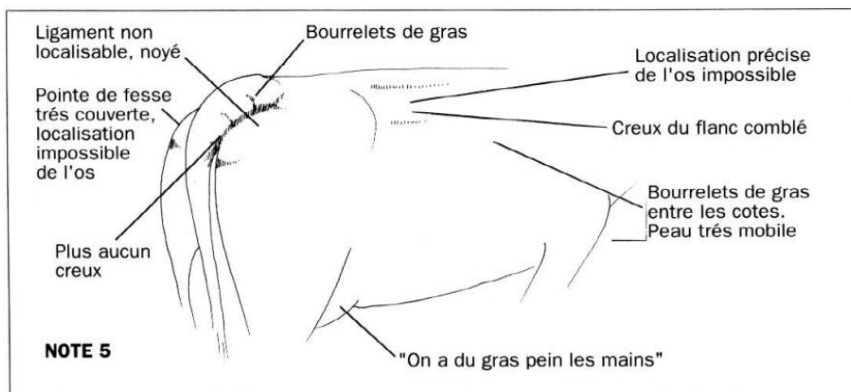
Ferme	Région	Animaux	Aliment	Traite	Nombre et fréquence des KO (%)
A	Rouiba	81 VL : 48 PN 31 MD 2 FV (32 gestants exclus)	Concentré (maïs, soja, CMV), luzerne déshydratée, foin, ensilage de maïs, paille.	Automatique (salle de traite parallèle)	6 (7.4)
B	Boufarik	45 VL : 29 PN 13 MD 3 CR	CMV, ensilage de maïs, paille.	Mécanique	7 (15.55)
C	Boufarik	15 VL : 11 PN 4 MD	Paille, ensilage de maïs, concentré.	Mécanique	4 (26.66)
D	Boufarik	73 VL : 52 PN 10 MD 11 CR	Concentré, foin, paille.	Mécanique	8 (10.95)
E	El-Harrach	25 VL : 7 PN, 8 Fleckvieh, 10 croisée	Concentré, fourrage vert.	Mécanique	3 (12)
F	Rouiba	51 VL : 22 PN 21 MD 8 CR	Paille, concentré et ensilage	Mécanique	5 (9.8)
G	Boufarik	66 VL : 40 PN 26 MD	Paille, CMV, ensilage de maïs.	Mécanique	5 (7.57)

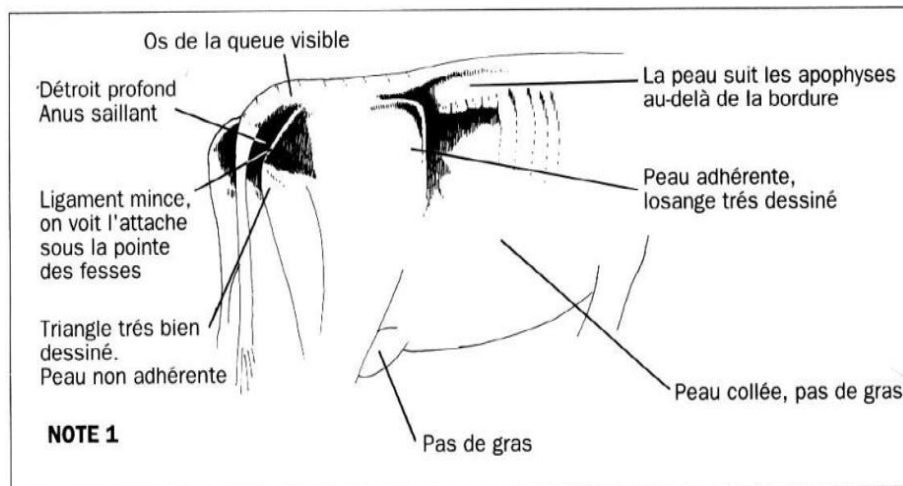
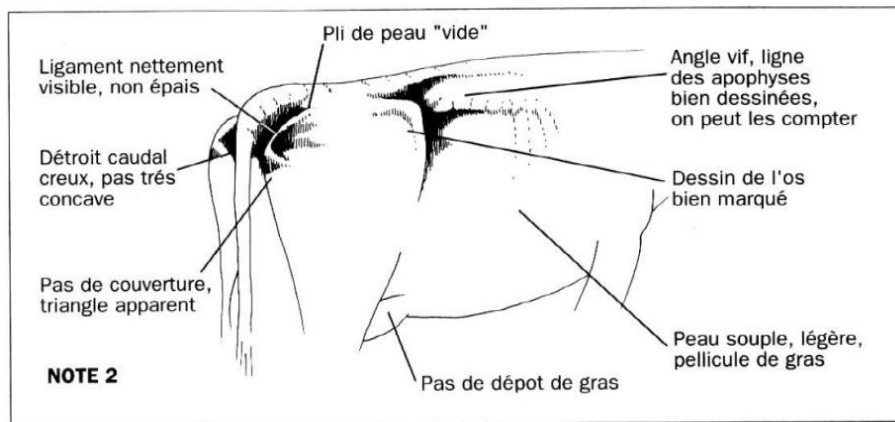
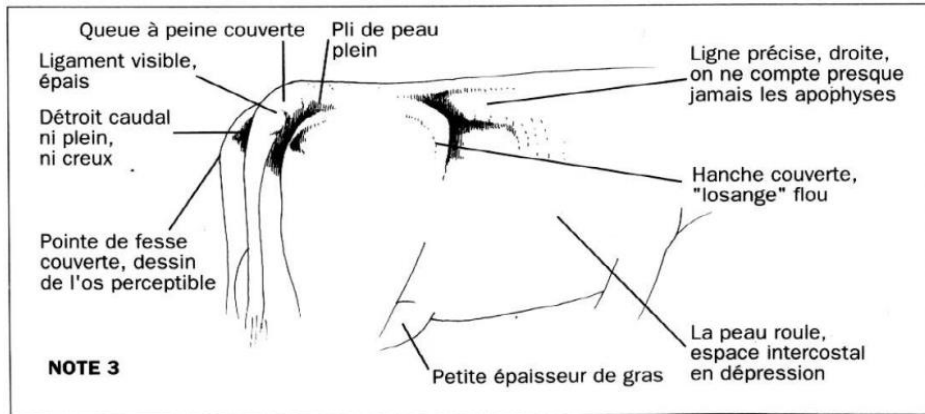
H	Boufarik	31 VL PN	Paille, concentré, ensilage.	Mécanique	4 (12.9)
I	Rouiba	50 VL : 25 PN 19 MD 06 FV	Paille, concentré, ensilage.	Mécanique	6 (12)
J	Rouiba	12 VL PN	Paille, concentré.	Mécanique	3 (25)
K	Boufarik	40 VL : 37 PN 3 MD	Paille, CMV, ensilage.	Mécanique	6 (15)
L	El-Harrach	15 VL : 9 PN 6 MD	Fourrage vert, concentré.	Mécanique	3 (20)

Annexe 8. Grille d'évaluation de la note d'état corporel des vaches laitières de race Prim'Holstein [394]

	SCORE	Spinous processes (SP) (anatomy varies)	Spinous to Transverse processes	Transverse processes	Overhanging shelf (care - rumen fill)	Tuber coxae (hooks) & Tuber ischii (pins)	Between pins and hooks	Between the hooks	Tailhead to pins (anatomy varies)
SEVERE UNDERCONDITIONING (emaciated)	1.00	individual processes distinct, giving a saw-tooth appearance	deep depression	very prominent, > 1/2 length visible	definite shelf, gaunt, tucked	extremely sharp, no tissue cover	severe depression, devoid of flesh	severely depressed	bones very prominent with deep "V" shaped cavity under tail
	1.25								
	1.50								
FRAME OBVIOUS	1.75			1/2 length of process visible					
	2.00	individual processes evident	obvious depression		prominent shelf	prominent	very sunken		bones prominent "U" shaped cavity formed under tail
	2.25			between 1/2 to 1/3 of processes visible					
	2.50	sharp, prominent ridge		1/3 - 1/4 visible	moderate shelf		thin flesh covering	definite depression	first evidence of fat
FRAME & COVERING WELL BALANCED	2.75								
	3.00		smooth concave curve	< 1/4 visible	slight shelf	smooth	depression	moderate depression	bones smooth, cavity under tail shallow & fatty tissue lined
	3.25			appears smooth, TP's just discernible					
	3.50	smooth ridge, the SP's not evident	smooth slope	distinct ridge, no invidual processes discernable		covered	slight depression	slight depression	
	3.75								
FRAME NOT AS VISIBLE AS COVERING	4.00	flat, no processes discernable	nearly flat	smooth, rounded edge	none	rounded with fat	sloping	flat	bones rounded with fat and slight fat-filled depression under tail
	4.25								
	4.50			edge barely discernable		buried in fat	flat		bones buried in fat, cavity filled with fat forming tissue folds
SEVERE OVERCONDITIONING	4.75								
	5.00	buried in fat	rounded (convex)	buried in fat	bulging		rounded	rounded	

Annexe 9. Grille d'évaluation de la note d'état corporel des vaches de race Montbéliarde [395]





Annexe 10. Kit de dosage de progestérone

Annexe 11. Table de conversion en unités du Système International (UI)**[329]**

Paramètre biochimique	Unité conventionnelle	Facteur de conversion	Unité Internationale
glucose	mg/dl	0.05551	mmol/l
bilirubine	mg/dl	17.1	mmol/l
cholestérol	mg/dl	0.02586	mmol/l
créatinine	mg/dl	88.4	mmol/l
BHB	mg/dl	0.096	mmol/l
Triglycérides	mg/dl	0.01129	mmol/l
Urée	mg/dl	0.1665	mmol/l
cortisol	μg/dl	27.59	nmol/l
Insuline	μUI/ml	7.175	Pmol/l
Enzymes	U/l	16.67	nkat/l

1. Gossen, N. and Hoedemaker, M., "Reproductive performance of dairy cows with relation to time of ovarian cyst formation", *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, V. 50, (2006), 159 - 161.
2. Ortega, H.H., Palomar, M.M., Acosta, J.C., Salvetti, N.R., Dallard, B.E., Lorente, J.A., Barbeito, C.G., Gimeno, E.J., "Insulin-like growth factor I in sera, ovarian follicles and follicular fluid of cows with spontaneous or induced cystic ovarian disease", *Research in Veterinary Science*, V. 84, (2008), 419 – 427.
3. Monniaux, D., Di Clemente, N., Touzé, J.L., Belville, C., Rico, C., Bontoux, M., Picard, J.Y., Fabre, S., "Intrafollicular Steroids and Anti-Müllerian Hormone During Normal and Cystic Ovarian Follicular Development in the Cow", *Biology of Reproduction*, V. 79, (2008), 387 – 396.
4. Roth, Z., Biran, D., Lavon, Y., Dafni, I., Yakobi, S., Braw-Tal, R., "Endocrine milieu and developmental dynamics of ovarian cysts and persistent follicles in postpartum dairy cows", *J. Dairy Sci.*, V. 95, (2011), 1729 – 1737.
5. Baravalle, M.E., Stassi, A.F., Velazquez, M.M.L., Belotti, E.M., Rodriguez, F.M., Ortega, H.H. and Salvetti, N.R., "Altered Expression of Pro-inflammatory Cytokines in Ovarian Follicles of Cows with Cystic Ovarian Disease", *J. Comp. Path.* V. 153, (2015), 116 - 130.
6. Vanholder, T., Leroy, J.L.M.R., Dewulf, J., Duchateau, L., Coryn, M., De Kruif, A., Opsomer, G., "Hormonal and Metabolic Profiles of High-yielding Dairy Cows Prior to Ovarian Cyst formation or First Ovulation Post-Partum", *Reprod. Dom. Anim.*, V. 40, (2005), 460 – 467.
7. Peter, A.T., "An update on cystic ovarian degeneration in cattle", *Reprod. Domest. Anim.*, V. 39, (2004), 1 – 7.
8. Vanholder, T., Opsomer, G., De Kruif, A., "Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle", a review, *Reprod. Nutr. Dev.*, V. 46, (2006), 105 – 119.
9. Mutlag, A.M., Wang, X., Yang, Z., Meng, J., Wang, X., Zhang, J., Qin, Z., Wang, G., Jianxi, L., "Study on matrix metalloproteinase 1 and 2 gene expression and NO in dairy cows with ovarian cysts", *Anim. Reprod. Sci.*, V. 152, (2015), 1 - 7.
10. Polat, I.M., Küplülü, S., Alçi, E., Dal, G.E., Pekcan, M., Yazlik, M.O., Vural, S.A., Baklaci, C., Vural, M.R., "Characterization of transforming growth factor beta superfamily, growth factors, transcriptional factors, and lipopolysaccharide in bovine cystic ovarian follicles", *Theriogenology*, V. 84, (2015), 1043 – 1052.

11. Brito, F.C.L. et Palmer, C.W., “La maladie kystique ovarienne chez les bovins”, La médecine vétérinaire des grands animaux-Rondes cliniques, V. 04, n° 10, (2004).
12. Probo, M., Comin, A., Mollo, A., Cairoli, F., Stradaoli, G., Veronesi, M.C., “Reproductive performance of dairy cows with luteal or follicular ovarian cysts after treatment with buserelin”, Animal Reproduction Science, V. 127, (2011), 135 - 139.
13. Vanholder, T., Leroy, J.L.M.R., Van Soom, A., Opsomer, G., Maes, D., Coryn, M., De Kruif, A., “Effect of non-esterified fatty acids on bovine granulosa cell steroidogenesis and proliferation in vitro”, Animal Reproduction Science” V. 87, (2005), 33 – 44.
14. Coleman, D.A., “Cystic Ovarian Disease”, Dairy Integrated Reproductive Management, West Virginia University, 2008.
15. Cook, D.L., Parfet, J.R., Smith, C.A., Moss, G.E., Youngquist, R.S., Brown, E.M., Garverick, H.A., “Secretory patterns of LH and FSH during development and hypothalamic and hypophysial characteristics following development of steroid-induced ovarian follicular cysts in dairy cattle”, J. Reprod. Fert., V. 91, (1991), 19–28.
16. Silvia, W.J., Hatler, T.B., Nugent, A.M., Laranja da Fonseca, L.F., “Ovarian follicular cysts in dairy cows: An abnormality in folliculogenesis”, Domestic Animal Endocrinology, V. 23, (2002), 167–177.
17. Khan, F.A., Das, G.K., Pande, M., Pathak, M.K., Sarkar, M., “Biochemical and hormonal composition of follicular cysts in water buffalo (*Bubalus bubalis*)”, Animal Reproduction Science, V. 124, (2011), 61–64.
18. Peter, A.T., “Infertility due to abnormalities of the ovaries”, In Youngquist RS (ed): Current Therapy in Theriogenology, WB Saunders Company, Philadelphia, (1997), 349-354.
19. [Yániz, J.](#), [López-Gatius, F.](#), [Bech-Sàbat, G.](#), [García-Ispuerto, I.](#), [Serrano, B.](#), [Santolaria, P.](#), “[Relationships between milk production, ovarian function and fertility in high-producing dairy herds in north-eastern Spain](#)”, [Reprod. Domest. Anim.](#), 43 Suppl., V. 4, (Oct. 2008), 38-43.
20. Silva, A.M., Moreira, R.J.C., Fernandes, C.A.C., Palhao, M.P., Gioso, M.M., Neves, J.P., “Treatment of ovarian cysts in cattle with lecorelin acetate”, Anim. Reprod., V. 9, (2012), 591.

21. Gümen, A., Wiltbank, M.C., “Follicular cysts occur after a normal estradiol-induced GnRH/LH surge if the corpus hemorrhagicum is removed”, *Reproduction*, V. 129, (2005), 737–745.
22. Tanaka, T., Sawai, R., Kumai, R., Kim, S., Kuroiwa, T., Kamomae, H., “Does exogenous progesterone and oestradiol treatment from the mid-luteal phase induce follicular cysts in goats?”, *Anim. Reprod. Sci.*, V. 97, Issues 3-4, (2008), 257-264.
23. Matsui, M., Akio, M., “Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound : Practical use for reproductive management in the cow”, *Review, The Veterinary Journal*, V. 181, (2009), 232–240.
24. Santos, R.M., Démetrio, D.G.B., Vasconcelos, J.L.M., “Cisto ovariano em vacas de leite: incidência, resposta à aplicação de GnRH e desempenho reprodutivo”, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, V. 61, n° 03, (2009).
25. Murayama, C., Yamasaki, E., Miyamoto, A., Shimizu, T., “Effect in dedicator of cytokinesis 6 (DOCK6) on steroid production in theca cells of follicular cysts”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, V. 462, (2015), 415-419.
26. Ortega, H.H., Salvetti, N.R., Müller, L.A., Amable, P., Lorente, J.A., Barbeito, G.C., Gimeno, E.J., “Characterization of Cytoskeletal Proteins in Follicular Structures of Cows with Cystic Ovarian Disease”, *J. Comp. Path.*, V. 136, (2007), 222-230.
27. Francou, M., Durdos, M., Salvetti, N.R., Baravalle, C., Rey, F., Ortega, H.H., “Characterization of pituitary cell populations in rats with induced polycystic ovaries”, *Cells Tissues Organs*, V. 188, (2008), 310-319.
28. Salvetti, N.R., Panzani, C.G., Gimeno, E.J., Neme, L.G., Alfaro, N.S., Ortega, H.H., “An imbalance between apoptosis and proliferation contributes to follicular persistence in polycystic ovaries in rats”, *Reproductive Biology and Endocrinology*, V. 7, (2009), 68.
29. Calder, M.D., Salfen, B.E., Bao, B., Youngquist, R.S., Garverick, H.A., “Administration of progesterone to cows with ovarian follicular cysts results in a reduction in mean LH and LH pulse frequency and initiates ovulatory follicular growth”, *J. Anim. Sci.*, V. 77, n° 11, (1999), 3037-3042.

30. Ginther, O.J., Kastelic, J.P. and Knopf, L., "Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves", *J. Reprod. Fertil.* V. 87, (1989), 223.
31. Jeengar, K., Chaudhary, V., Kumar, A., Raiya, S., Gaur, M., Purohit, G.N., "Ovarian cysts in dairy cows: old and new concepts for definition, diagnosis and therapy", *Anim. Reprod.*, V. 11, n° 02, (2014), 63-73.
32. Yotov, S.A., Atanasov, A.S., Georgiev, G.B., Dineva, J.D., Palova, N.A., "Investigation on some biochemical parameters and effect of hormonal treatment in anoestrous dairy cows with cystic ovarian follicle", *Asian Pacific Journal of Reproduction*, V. 3, n°01, (2014), 41-45.
33. Zulu, V.C., Nakao, T., Yamada, K., et al, "Clinical response of ovarian cysts in dairy cows after PRID treatment" *J. Vet. Med. Sci.*, V. 65, (2003), 57-62.
34. Yoshioka, K., Iwamura, S., Kamomae, H., "Ultrasonic observations on the turnover of ovarian follicular cysts and associated changes of plasma LH, FSH, progesterone and oestradiol-17 beta in cows", *Res. Vet. Sci.*, V. 61, (1996), 240-244.
35. Garverick, H.A., "Ovarian follicular cysts in dairy cows", *J. Dairy. Sci.*, V. 80, (1997), 995–1004.
36. Odore, R., Re, G., Badino, P., Donn, A., Vigo, D., Biolatti, B., Girardi, C., "Modifications of receptor concentrations for adrenaline, steroid hormones, PGf2alpha, gonadotropins in hypophysis and ovary of dairy cows with ovarian cysts", *Pharmacological Research*, V. 39, n° 04, (1999).
37. Douthwaite, R., Dobson, H., "Comparison of different methods of diagnosis of cystic ovarian disease in cattle and an assessment of its treatment with a progesterone-releasing intravaginal device", *Vet. Rec.*, V. 147, (2000), 355–359.
38. Allrich, R.D., "Ovarian Cysts in Dairy Cattle", *Purdue University Cooperative Extension Service*, West Lafayette, IN 47907, (2001).
39. Ali, A., Al-sobayil, F.A., Tharwat, M., Al-Hawas, A., Ahmed, A.F., "Causes of infertility in female camels (*Camelus dromedarius*) in Middle of Saudi Arabia", *J. Agr. Vet. Sci. Qassim Univ.*, V. 2, (2010), 59–66.

40. Farin, P.W., Youngquist, R.S., Parfet, J.R. et al, "Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts in dairy cows by sector scan ultrasonography", *Theriogenology*, V. 34, n° 04, (1990), 633-643.
41. Farin, P.W., Youngquist, R.S., Parfet, J.R., et al, "Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts by palpation per rectum and linear-array ultrasonography in dairy cows", *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, V. 200, (1992), 1085-1089.
42. Jeffcoate, I.A., Ayliffe, T.R., "An ultrasonographic study of bovine cystic ovarian disease and its treatment", *Vet. Rec.*, V. 136, (1995), 406– 410.
43. Garverick, H.A., Youngquist, R.S., "Getting Problem Cows Pregnant", **University of Missouri Extension**, 1993.
44. Schlafer, D.H., "Pathology of the Ovary (Nondevelopmental Lesions)", *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*, V. 3, (2007), 444-450.
45. Peter, A.T., Levine, H., Drost, M. and Bergfelt, D.R., "Compilation of Classical and Contemporary Terminology Used to Describe Morphological Aspects of Ovarian Dynamics in Cattle", *Theriogenology*, V. 71, (2009), 1343-1357.
46. Zemjanis, R., "Diagnostic and therapeutic: techniques in animal reproduction", 2nd ed. Williams and Wilkins: Baltimore, (1970), 242.
47. Carroll, D.J., Pierson, R.A., Hauser, E.R., Grummer, R.R. and Combs, D.K., "Variability of ovarian structures and plasma progesterone profiles in dairy cows with ovarian cysts", *Theriogenology*, V. 34, (1990), 349.
48. Roberts, S.J., "Veterinary obstetrics and genital diseases", Ann. Arbor., MI: Edward Brothers Inc, (1971).
49. Edmondson, A.J., Fissore, R.A., Pashen, R.L., Bondurant, R., "The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract 1. Normal and pathological ovarian structures", *Anim. Reprod. Sci.*, V. 12, (1986), 157–165.
50. Hanzen, Ch., Lourtie, O., Drion, P.V., "Le développement folliculaire chez la vache, I.Aspects morphologiques et cinétiques", *Annales de Médecine Vétérinaire*, V. 144, (2000), 223-235.
51. Kastelic, J.P., Bergfelt, D.R. and Ginther, O.J., "Relationship between ultrasonic assesment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers", *Theriogenology*, V. 33, (1990), 1269-1278.

52. Silvia, W.J., McGinnis, A.S., Hatler, T.B., “A comparison of adrenal gland function in lactating dairy cows with or without ovarian follicular cysts”, *Reproductive Biology*, V. 05, n° 01, (2005).
53. Gümen, A., Wiltbank, M.C., “Length of progesterone exposure needed to resolve large follicle anovulatory condition in dairy cows”, *Theriogenology*, V. 63, (2005), 202–218.
54. O'Connor, M., “Confusion concerning the diagnosis, cause and treatment of cystic ovarian disorders”, *Dairy and Animal Science Extension*, (2009).
55. Rajmon, R., Šichtař, J., Vostrý, L., Řehák, D., “Ovarian follicle growth dynamics during the postpartum period in Holstein cows and effects of contemporary cyst occurrence”, *Czech J. Anim. Sci.*, V. 57, (2012), 562-572.

56. Mutinati, M., Rizzo, A., Sciorsci, R.L., “Cystic ovarian follicles and thyroid activity in the dairy cow”, *Animal Reproduction Science*, V. 138, (2013), 150-154.
57. Calder, M.D., Manikkam, M., Salfen, B.E., Youngquist, R.S., Lubahn, D.B., Lamberson, W.R., Garverick, H.A., “Dominant bovine ovarian follicular cysts express increased levels of messenger RNAs for luteinizing hormone receptor and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase delta(4),delta(5) isomerase compared to normal dominant follicles”, *Biol. Reprod.*, V. 65, (2001), 471–476.
58. Cartmill, J.A., El-Zarkouny, S.Z., Hensley, B.A., Lamb, G.C., Stevenson, J.S., “Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols”, *J. Dairy Sci.*, V. 84, (2001), 1051–1059.
59. Purohit, G.N., Joshi, B.K., Bishnoi, B.L., Gupta, A.K., Joshi, R.K., Vyas, S.K., Gupta, K.A., Pareek, P.K., Sharma, S.S., “Cystic ovarian disease in Rathi Cattle”, *Ann. Arid. Zone*, V. 40, (2001), 199-202.
60. Gümen, A., Guenther, J.N., Wiltbank, M.C., “Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows”, *J. Dairy Sci.*, V. 86, (2003), 3184–3194.
61. Osmanu, S.T., “Studies on bovine infertility at the Agricultural Research Station (Legon) over half a decade (1972-77)”, *Ghana University, Department of Animal Science Studies, Legon, Ghana*, (1979), 82.

62. Kaikimi, A.S., Chikalikar, G.K. and Dindorkar, C.V., "Reproductive disorders in Holstein-Friesian x Gir F₁ crossbred cows", *Indian Journal of Animal Sciences*, V. 53, (1983), 556-558.
63. Kirk, J.H., Huffman, E.M., Lane, M., "Bovine cystic ovarian disease: hereditary relationships and case study", *J. Am. Vet. Assoc.*, V. 181, (1982), 474-476.
64. Nanda, A.S., Ward, W.R. and Dobson, H., "Lack of LH response to oestradiol treatment in cows with cystic ovarian disease and effect of progesterone treatment or manual rupture", *Res. Vet. Sci.*, V. 51, (1991), 180-184.
65. Adams, G.P., Matteri, R.L., Kastelic, J.P., Ko, J.C.H., and Ginther, O.J., "Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers", *J. Reprod. Fertil.*, V. 94, (1992), 177.
66. Hamilton, S.A., Garverick, H.A., Keisler, D.H., Xu, Z.Z., Loos, K., Youngquist, R.S., Salfen, B.E., "Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows", *Biol. Reprod.*, V. 53, (1995), 890-898.
67. Savio, J.D., Boland, M.P., Hynes, N. and Roche, J.F., "Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows", *J. Reprod. Fert.*, V. 88, (1990), 569-579.
68. Cook, D.L., Smith, C.A., Parfet, J.R., Youngquist, R.S., Brown, E.M., Garverick, H.A., "Fate and turnover rate of ovarian follicular cysts in dairy cows", *J. Reprod. Fertil.*, V. 89, (1990), 155-166.
69. Wiltbank, M.C., Gümen, A., Sartori, R., "Physiological classification of anovulatory conditions in cattle", *Theriogenology*, V. 57, (2002), 21-52.
70. Kengaku, K., Tanaka, T., Kamomae, H., "Changes in the Peripheral Concentrations of Inhibin, Follicle-stimulating Hormone, Luteinizing Hormone, Progesterone and Estradiol- 17 β During Turnover of Cystic Follicles in Dairy Cows with Spontaneous Follicular Cysts", *J. Reprod. Dev.*, V. 53, (2007), 987-993.
71. Hatler, T.B., Hayes, S.H., da Fonseca, L., Silvia, W.J., "Relationships between endogenous progesterone and follicular dynamics in lactating dairy cows with ovarian follicular cysts", *Biol. Reprod.*, V. 69, (2003), 218-223.
72. Elmore, R.G., Bierschwal, C.J., Youngquist, R.S., Cantley, T.C., Kesler, D.J. and Garverick, H.A., "Clinical responses of dairy cows with ovarian cysts after treatment with 10,000 I.U. hCG or 100 mcg GnRH", *Vet. Med./Sm. Animal Clinic*, (1975), 1346-1349.

73. Abuom, T.O., Njenga, M.J., Wabacha, J.K., Tsuma, V.T. and Gitau, G.K., “Incidence and risk factors of periparturient conditions in smallholder dairy cattle herds in Kikuyu Division of Kiambu District, Kenya”, *Ethiop. Vet. J.*, V. 16, n°02, (2012), 85-102.
74. Al-Dahash, S.Y.A., David, J.S.E., “Anatomical features of cystic ovaries found during an abattoir survey”, *Vet. Rec.*, V. 101, (1977), 320–324.
75. Ginther, O.J., “Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction”, Book 3, Cattle pp 46 and 100. Equiservices Publishing, Cross Plains, (1998).
76. Ribadu, A.Y., Dobson, H. and Ward, W.R., “Ultrasound and progesterone monitoring of ovarian follicular cysts in cows treated with GnRH”, *Br. Vet. J.*, V. 150, (1994), 489-497.
77. Boyd, J.S., Omran, S.N, “Diagnostic ultrasonography of bovine female reproductive tract”, *In Practice*, V. 13, (1991), 109-113.
78. Ohnami, Y., Kikuchi M., Onuma H., “The use of ultrasonography to study the responses of cystic ovarian follicles in cows to treatment with GnRH analog”, *Irish Veterinary Journal*, V. 48, (1995), 275-276.
79. Jou, P., Buckrell, B.C., Liptrap, R.M., Summerlee, A.J. and Johnson, W.H. “Evaluation of the effect of GnRH on follicular ovarian cysts in dairy cows using trans-rectal ultrasonography”, *Theriogenology*, V. 52, (1999), 923-937.
80. Probo, M., Comin, A., Cairoli, F., Faustini, M., Kindahl, H., De Amicis, I., Veronesi, M.C., “Selected Metabolic and Hormonal Profiles during Maintenance of Spontaneous Ovarian Cysts in Dairy Cows”, *Reprod. Dom. Anim.*, V. 46, (2011), 448–454.
81. Bartolome, J., Sozzi, A., McHale, J., “Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows. II. Assigning protocols according to stages of the oestrus cycle or presence of ovarian cysts or anoestrus”, *Theriogenology*, V. 63, (2005), 1628-1642.
82. Booth, J.M., “The milk progesterone test as an aid to the diagnosis of cystic ovaries in dairy cows”, *Vet. Rec.*, V. 123, (1988), 437-439.
83. Nakao, T., Sugihashi, A., Saga, N., Tsunoda, N. and Kawata, K., “Use of milk progesterone enzyme immunoassay for differential diagnosis of follicular cyst, luteal cyst, and cystic corpus luteum in cows”, *Am. J. Vet. Res.*, V. 44, (1983), 888-890.
84. Sprecher, D.J., Nebel, R.L., Whittier, W.D., “Predictive value of palpation per rectum vs milk and serum progesterone levels for the diagnosis of bovine follicular cysts and luteal cysts”, *Theriogenology*, V. 30, (1988), 701-709.

85. Braw-Tal, R., Pen, S., Roth, Z., "Ovarian cysts in high-yielding dairy cows", *Theriogenology*, V. 72, (2009), 690–698.
86. Okuda, K., Kito, S. and Sumi, N., "A study of the central cavity in the bovine corpus luteum", *Vet. Rec.*, V. 123, (1988), 180-183.
87. Dobson, H., Rankin, J.E., Ward, W.R., "Bovine cystic ovarian disease: plasma hormone concentrations and treatment", *Vet. Rec.*, V. 101, (1977), 459-461.
88. Ax, R.L., Bellin, M.E., Scheinder, D.K. and Haase-Hardie, J.A., "Reproductive performance of dairy cows with cystic ovaries following administration of procystin", *J. Dairy Sci.*, V. 69, (1986), 542-545.
89. Marion, G.B. and Gier, H.T., "Factors Affecting Bovine Ovarian Activity After Parturition", *J. Anim. Sci.*, V. 27, (1968), 1621-1626.
90. Hackett, A.J. and Batra, T.R., "The Incidence of Cystic Ovaries in Dairy Cattle Housed in a Total Confinement System", *Can. J. Comp. Med.*, V. 49, (1985), 55- 57.
91. Drion, P.V., Beckers, J.F., Ectors, F.J., Hanzen, C., Houtain, J-Y., Lonergan, P., "Régulation de la croissance folliculaire et lutéale Numéro special « Reproduction des ruminants »", *Le point vétérinaire*, V. 28, (1996), 881-900.
92. Greenwald, G.S., "Development of ovulatory refractoriness in the rabbit to cyclic injections of human chorionic gonadotropin", *Fertility and Sterility*, V. 21, (1970), 163-168.
93. Thibault, C., Levasseur, M.C., "La reproduction chez les mammifères et l'homme", Coédition INRA-Ellipses, Paris, (2001), 928.
94. Bendell, J.J. and Dorrington, J.H., "Epidermal growth factor influences growth and differentiation of rat granulosa cells", *Endocrinology*, V. 127, (1990), 533-540.
95. Roche, J.F., Crowe, M.A., Boland, M.P., "Postpartum anoestrus in dairy and beef cows", *Anim. Reprod. Sci.*, V. 28, (1992), 371-378.
96. Elvin, J.A., Yan, C., Wang, P., "Molecular characterization of the follicle defects in the growth differentiation factor-9 deficient ovary", *Molecular Endocrinology*, V. 13, (1993), 1018-1034.
97. Moser, M.T., Garverick, H.A., Smith, M.F., Youngquist, R.S., "Follicular growth and endocrine patterns of prepuberal heifers administered bovine follicular fluid and (or) follicle stimulating hormone", *Anim. Reprod. Sci.*, V. 18, (1989), 227-242.

98. Driancourt, M., "Follicular dynamics in sheep and cattle", *Theriogenology*, V. 35, (1991), 55-79.
99. Ireland, J.J., Roche, J.F., "Hypothesis regarding development of dominant follicles during a bovine oestrous cycle". In: *Follicular growth and ovulation rate in farm animals*", Editions J. F. Roche and O'Callaghan, (1987), 1-18.
100. Sirois, J., Fortune, J.E., "Ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifer monitored by real-time ultrasonography", *Biol. Reprod.*, V. 39, (1988), 308.
101. Fortune, J.E. et Quirck S.M., "Regulation of steroidogenesis in bovine preovulatory follicles", *J. Anim. Sci.*, V. 66 (suppl 2), (1988), 1-8.
102. Savio, J.D., Keenan, L., Boland, M.P., Roche, J.F., "Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers", *J. Reprod. Fert.*, (1988), 663-671.
103. Knopf, L., Kastelic, J.P., Schallenberger, E., Ginther O.J., "Ovarian follicular dynamics in heifers: Test of 2 wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles", *Domestic Anim. Endocrino.*, V. 1, n° 06, (1989), 111-120.
104. Ko, J.C.H., Kastelic, J.P., Del Campo, M.R., "Effects of a dominant on ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers", *J. Reprod. Fert.*, V. 91, (1991), 511-519.
105. Taylor, C., Rajamahendran, R., "Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle", *Can. J. Anim. Sci.*, V. 71, (1991), 61-68.
106. Lucy, M.C., Savio, J.D., Badinga, L., De La Sota R.L. and Thatcher, W.W., "Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle", *J. Anim. Sci.*, V. 70, (1992), 3615-3626.
107. Fortune, J.E., "Follicular dynamics during the bovine oestrous cycle-A limiting factor in improvement of fertility", *Anim. Reprod.Sci.*, V. 33, (1993), 111-125.
108. Adams, G.P., "Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle :implications for synchronisation and superstimulation", *Theriogenology*, V. 41, (1994), 19-24.
109. Townson, D.H., et al., "Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows", *J. Anim. Sci.*, V. 80, n° 04, (2002), 1053-8.
110. Ennuyer, M., "Les vagues folliculaires chez la vache: Applications pratiques à la maîtrise de la reproduction", *Point Vét.*, V. 31, n° 209, (2000), 377-383.
111. Hopper, H.W., Silcox, R.W., Byerley, D.J. et coll, "Follicular development in prepubertal heifers", *Anim. Reprod. Sci.*, V. 31, (1993), 7-12.

112. Savio, J.D., Boland, M.P., Roche, J.F., "Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows", *J. Reprod. Fertil.*, V. 88, (1990), 581-591.
113. Adams, G.P., et al., "Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle" *Theriogenology*, V. 69, n° 01, (2008), 72-80.
114. Fortune, J.E., "Ovarian follicular growth and development in mammals", *Biol. Reprod.*, V. 50, (1994), 225-232.
115. DiZerega, G.S., Hodgen, G.D., "The primate ovarian cycle: suppression of human menopausal gonadotropin induced follicular growth in the presence of dominant follicle", *J. Clin. Endocr. Metab.*, V. 50, (1980), 819-825.
116. Cahill, L.P., Mauleon, P., "Influences of season cycle and breed on follicular growth rates in sheep", *J. Reprod. Fert.*, V. 24, (1980), 39-43.
117. Driancourt, M.A., Cahill, L.P., "Preovulatory follicular events in sheep", *J. Reprod. Fert.*, V. 71, (1984), 205-211.
118. Descôteaux, L., Vaillancourt, D., VADE-MECUM de gestion de la reproduction des bovins laitiers, Med'Com, Paris (France), (2012).
119. Ireland, J.J., et al., "Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycle: key concepts, studies, advancements, and terms", *J. Dairy. Sci.*, V. 83, n° 07, (2000), 1648-58.
120. Picton, H.M., Tsonis, C.G., McNeilly, A.S., "FSH causes a time dependant stimulation of preovulatory follicle growth in the absence of pulsatile LH secretion in ewes chronically treated with GnRH agonist", *J. End.*, V. 126, (1990), 297-307.
121. Ginther, O.J., et al., "Follicle selection in monovular species", *Biol. Reprod.*, V. 65, n° 03, (2001), 638- 47.
122. Lopez, H., Sartori, R. and Wiltbank, M.C., "Reproductive hormones and follicular growth during development of one or multiple dominant follicles in cattle", *Biol. Reprod.*, V. 72, n° 04, (2005), 788-95.
123. Bao, B., Garverick, H.A., Smith, G.W., Smith, M.F., Salfen, B.E., Youngquist, R.S., "Changes in messenger ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome P450-side chain cleavage, and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles" *Biol. Reprod.*, V. 56, (1997), 1158-1168.

124. Bao, B., Garverick, H.A., "Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicle during ovarian follicular waves", a review, *J. Anim. Sci.*, V. 76, (1998), 1903-1921.
125. Lavoit, M., Fortune, J.E., "Follicular dynamics in heifers after injection of PGF₂ alpha during the first wave of follicular development", *Theriogenology*, V. 33, (1990), 270.
126. Sirois, J., Fortune, J.E., "Lengthening the bovine oestrous with low level of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicle dominance", *Endocrinology*, V. 127, (1990), 916-925.
127. Gong, J.G., Bramley, T.A., Webb, R., "The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian follicular growth and development in heifers", *J. Reprod. Fert.*, V. 97, (1993), 247-254.
128. Kastelic, J.P., Knopf, L., Ginther, O.J., "Effect of day of prostaglandin F₂ α treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers", *Anim. Reprod. Sci.*, V. 23, (1990), 169-180.
129. Pierson, R.A. and Ginther, O.J., "Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle", *Theriogenology*, V. 29, (1988), 21-37.
130. Guilbault, L.A., Grasso, F., Lussier, J.G., Rouillier, P., Matton, P., "Decreased superovulatory responses in heifers superovulated in presence of a dominant follicle", *J. Reprod. Fertil.*, (1991), 91.
131. Mihm, M., A.E., Good, T.E.M., Ireland, J.L.H., Knight, P.G., Roche, J.F., Ireland, J.J., "Identification of potential intrafollicular factors involved in selection of dominant follicles in heifers", *Biol. Reprod.*, V. 63, (2000), 811-819.
132. Rivera, G.M. and Fortune, J.E., "Development of codominant follicles in cattle is associated with a follicle-stimulating hormone-dependent insulin-like growth factor binding protein-4 protease", *Biol. Reprod.*, V. 65, n^o 01, (2001), 112.
133. Berisha, B., Schams, D., "Ovarian function in ruminants", *Domestic Animal Endocrinology*, V. 29, (2005), 305-317.
134. Ginther, O.J., "Folliculogenesis during the transitional period and early ovulatory season in mares", *J. Reprod. Fertil.*, V. 90, (1990), 311-320.
135. Medan, M.S., Watanabe, G., Sasaki, K., Groome, N.P., Sharawy, S., Taya, K., "Follicular and hormonal dynamics during the estrous cycle in goats", *Journal of Reproduction*, V. 51, (2005), 455-63.

136. Erickson, G.F., Wang, C., Hsueh, A.J., “FSH induction of functional LH receptors in granulosa cells cultured in a chemically defined medium”, *Nature*, V. 279, (1979), 336–338.
137. Peters, H., McNatty, K.P., “The ovary”, *Reproduct. Biol. Handbooks*, Univ. Liverpool. C.A. FINN Ed. Granada Publ., London, (1980), 175
138. INRAP, “Reproduction des mammifères d'élevages : Enseignement agricole, formation professionnelle”, Foucher Editions, Paris, France, (1991), 240.
139. [Herath, S.](#), [Williams, E.J.](#), [Lilly, S.T.](#), [Gilbert, R.O.](#), [Dobson, H.](#), [Bryant, C.E.](#), [Sheldon, I.M.](#), “Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their endocrine function”, *Reproduction*, V. 134, n° 05, (2007), 683-93.
140. Akagi, S., Kaneko, H., Nakanishi, Y., Takedomi, T., Watanabe, G., Taya, K., “Ovarian response and FSH profile in cows following injection of various doses of inhibin antiserum”, *J. Vet. Med. Sci.*, V. 59, (1997), 1129-1135.
141. Morris, D.G., Kane, M.T., Diskin, M.G., Sreenan, J.M., “Control of Ovulation Rate In Beef Cattle”, [en ligne],
[<http://www.teagasc.ie/research/reports/beef/4012/eopr4012.asp>], (2002).
142. Hunter, M.G., Robinson, R.S., Mann, G.E. and Webb, R., “Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species”, *Anim. Reprod. Sci.*, V. 82-83, (2004), 461-77.
143. Hull, K.L. and Harvey S., “Growth hormone: roles in female reproduction”, *J. Endocrinol.*, V. 68, n° 01, (2001), 1-23.
144. Diaz, P.U., Stangaferro, M.L., Matiller, V., Salvetti, N.R., Gareis, N.C., Rey, F., Silvia, W.J., Barberis, F., Cattaneo, L., Ortega, H.H., “Characterization of persistent follicles induced by prolonged treatment with progesterone in dairy cows: An experimental model for the study of ovarian follicular cysts”, *Theriogenology*, V. 84, (2015), 1149–1160.
145. Zaiied, A.A., Garverick, H.A., Kesler, D.J., et al, “Luteinizing hormone response to estradiol benzoate in cows postpartum and cows with ovarian cysts”, *Theriogenology*, V. 16, (1981), 349-358.
146. Refsal, K.R., Jarrin-Maldonado, J.H., Nachreiner, R.F., “Basal and estradiol-induced release of gonadotropins in dairy cows with naturally occurring ovarian cysts”, *Theriogenology*, V. 30, (1988), 679-693.

147. Isobe, N., "Follicular cysts in dairy cows", *Animal Science Journal*, V. 78, (2007), 1–6.
148. De Silva, M., Reeves, J.J., "Hypothalamic-pituitary function in chronically cystic and regularly cycling dairy cows", *Biol. Reprod.*, V. 38, (1988), 264–269.
149. Stock, A.E., Fortune, J.E., "Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters", *Endocrinology*, V. 132, (1993), 1108–1114.
150. Robinson, R.S., Hunter, M.G., Mann, G.E., "Supra- basal progesterone concentrations during the follicular phase are associated with development of cystic follicles in dairy cows", *Vet. J.*, V. 172, (2006), 340-346.
151. Beam, S.W., Butler, W.R., "Energy balance metabolic hormones and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid", *J. Dairy Sci.*, V. 81, (1998), 121-131.
152. Hampton, J.H., Salfen, B.E., Bader, J.F., Keisler, D.H., Garverick, H.A., "Ovarian follicular responses to high doses of pulsatile luteinizing hormone in lactating dairy cattle", *J. Dairy. Sci.*, V. 86, (2003), 1963–1969.
153. Kawate, N., Inaba, T., Mori, J., "A quantitative comparison in the bovine of steroids and gonadotropin receptors in normally developing follicles and in follicular and luteinized cysts", *Anim. Reprod. Sci.*, V. 23, (1990), 273–281.
154. Rosenfeld, C.S., Yuan, X., Manikkam, M., Calder, M.D., Garverick, H.A., "Cloning, sequencing, and localization of bovine estrogen receptor- α within the ovarian follicle", *Biol. Reprod.*, V. 60, (1999), 691–697.
155. Bao, B., Kumar, N., Karp, R.M., Garverick, H.A., Sundaram, K., "Estrogen receptor expression in relation to the expression of luteinizing hormone receptor and cytochrome P450 enzymes in rat ovarian follicles", *Biol. Reprod.*, V. 63, (2000), 1747–1755.
156. Salvetti, N.R., Acosta, J.C., Gimeno, E.J., Müller, L.A., Mazzini, R.A., Taboada, A.F., Ortega, H.H., "Estrogen Receptors and Progesterone Receptors in Normal Bovine Ovarian Follicles and Cystic Ovarian Disease", *Vet. Pathol.* V. 44, (2007), 373–378.
157. Alfaro, N.S., Salvetti, N.R., Velazquez, M.M., Stangaferro, M.L., Rey, F, Ortega, H.H., "Steroid receptor mRNA expression in the ovarian follicles of cows with cystic ovarian disease", *Research in Veterinary Science*, V. 92, (2012), 478–485.

158. Yousefdoost, S., Samadi, F., Moghaddam, G., Hassani, S., Jafari Ahangari, Y., “A comparison of hormonal, metabolite and mineral profiles between Holstein cows with and without ovarian cysts”, *International Journal of AgriScience*, V. 2, n° 12, (2012), 1107-1115.
159. Grado-Ahuir, J.A., Aad, P.Y., Spicer, L.J., “New insights into the pathogenesis of cystic follicles in cattle: microarray analysis of gene Expression in granulosa cells”. *J. Anim. Sci.* V. 89, (2011), 1769–1786.
160. Imai, K., Khandoker, M.A.M.Y., Yonai, M., Takahashi, T., Sato, T., Ito, A., Hasegawa, Y., Hashizume, K., “Matrix metalloproteinases-2 and -9 activities in bovine follicular fluid of different-sized follicles: relationship to intrafollicular inhibin and steroid concentrations”, *Domest Anim Endocrin*, 24, (2003), 171–183.
161. Santos, R.M., Démetrio, D.G.B., Vasconcelos, J.L.M., “Cisto ovariano em vacas de leite: incidência, resposta à aplicação de GnRH e desempenho reprodutivo”. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, V. 61, n° 03, (2009), 527-532.
162. Robker, R.L., Russell, D.L., Yoshioka, S., Chidanada, S.S, Lydon, J.P., O'Malley, B.W., Espey, L.L., Richards, J.S., Ovulation : a multi-gene, multi-step process. *Steroids*, V. 65, (2000), 559–570.
163. Choe, C., Cho, Y.W., Kim, C.W., Son, D.S., Han, J., Kang, D., “Identification of Differentially Expressed Genes in Bovine Follicular Cystic Ovaries”, *Korean J. Physiol. Pharmacol.* V. 14, October (2010), 265–272.
164. Isobe, N., Yoshimura, Y., “Localization of apoptotic cells in the cystic ovarian follicles of cows: a DNA-end labelling histochemical study”, *Theriogenology*, V. 53, (2000), 897–904.
165. Isobe, N., Yoshimura, Y., “Immunocytochemical Study Of Cell Proliferation In The Cystic Ovarian Follicles In Cows”, *Theriogenology*, V. 54, (2000), 1159-1169.
166. Slot, K.A., Voorendt, M., De Boer-Brouwer, M., Van Vugt, H.H., Teerds, K.J., “Estrous cycle dependent changes in expression and distribution of Fas, Fas ligand, Bcl-2, Bax, and pro- and active caspase-3 in the rat ovary”, *Endocrinol*, V. 188, (2006), 179-192.
167. Salvetti, N.R., Stangaferro, M.L., Palomar, M.M., Alfaro, N.S., Rey, F., Gimeno, E.J., Ortega H.H., “Cell proliferation and survival mechanisms underlying the abnormal persistence of follicular cysts in bovines with cystic ovarian disease induced by ACTH”, *Animal Reproduction Science*, V. 122, (2010), 98–110.

168. Rey, F., Rodriguez, F.M., Salvetti, N.R., Palomar, M.M., Barbeito, C.G., Alfaro, N.S., Ortega, H.H., “Insulin-like growth factor-II and insulin-like growth factor-binding proteins in bovine cystic ovarian disease”, *J. Comp. Pathol.*, V. 142, (2009), 193–204.
169. Paredes, A.H., Salvetti, N.R., Diaz, A.E., Dallard, B.E., Ortega, H.H., Lara, H.E., “Sympathetic nerve activity in normal and cystic follicles from isolated bovine ovary: local effect of beta-adrenergic stimulation on steroid secretion”, *Reproductive Biology and Endocrinology*, V. 9, (2011), 66.
170. Rizzo, A., Spedicato, M., Mutinati, M., Minoia, G., Pantaleo, M., Sciorsci, R.L., “*In vivo* and *in vitro* studies of the role of the adrenergic system and follicular wall contractility in the pathogenesis and resolution of bovine follicular cysts”, *Theriogenology*, V. 76, (2011), 1526–1531.
171. Lara, H.E., Dorfman, M., Venegas, M., Luza, S.M., Luna, .S.L, Mayerhofer, A., Guimaraes, M.A., Rosa, E., Silva, A.A., Ramirez, V.D., “Changes in sympathetic nerve activity of the mammalian ovary during a normal estrous cycle and in polycystic ovary syndrome: studies on norepinephrine release”, *Microsc. Res. Tech.*, V. 59, (2003), 495–502.
172. Kozłowska, A., Wojtkiewicz, J., Majewski, M., Jana, B., “The Noradrenergic Innervation and Steroidogenic Activity of Porcine Cystic ovaries”, *Physiol. Res.*, V. 62, (2013), 421-433.
173. López-Gatiús, .F, Santolaria, P., Yániz, J., Fenech, M., López-Béjar, M., “Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows”, *Theriogenology*, V. 58, (2002), 1623–1632.
174. Crane, M.B., Bartolome, J., Melendez, P., de Vries, A., Risco, C., Archbald, L.F., “Association between milk production and treatment response of ovarian cysts in lactating dairy cows using the Ovsynch protocol”, *Theriogenology*, V. 65, n° 08, (2006), 1563-74.
175. Fleischer, P., Metzner, M., Beyerbach, M., “The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows”, *J. Dairy. Sci.*, V. 84, (2001), 2025-2035.
176. Hooijer, G.A., van Oijen, M.A.A.J., Frankena, K., Valks, M.M.H., “Fertility parameters of dairy cows with cystic ovarian disease after treatment with gonadotrophin-releasing hormone”, *Vet. Rec.*, V. 149, (2001), 383–386.

177. Zulu, V.C., Penny, C., “Risk factors of cystic ovarian disease in dairy cows”, *J. Reprod Dev*, 44, (1998), 191-195.
178. Erb, H.N., “High Milk Production as a Cause of Cystic Ovaries in Dairy Cows: Evidence to the Contrary”, *The Compendium on Continuing Education*, V. 6, (1984), S215-S216.
179. Beam, S.W. and Butler, W.R., “Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows”, *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, V. 54, (1999), 411-424.
180. Rodríguez, F.M., Salvetti, N.R., Panzani, C.G., Barbeito, C.G., Ortega, H.H., Rey, F., “Influence of insulin-like growth factor-binding proteins-2 and -3 in the pathogenesis of cystic ovarian disease in cattle”, *Animal Reproduction Science*, V. 128, (2011), 1-10.
181. Lucy, M.C., “Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end?”, *J. Dairy Sci.*, V. 84, n° 06, (2001), 1277-1293.
182. Block, S.S., Butler, W.R., Ehrhardt, R.A., Bell, A.W., Van Amburgh, M.E., Boisclair, Y.R., “Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance”, *J. Endocrinol.*, V. 171, (2001), 339–348.
183. Leroy, J.L.M.R., Vanholder, T., Delanghe, J.R., Opsomer, G., Van Soom, A., Bols, P.E.J., De Kruif, A., “Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows”, *Animal Reproduction Science*, V. 80, (2004), 201–211.
184. Roche, J., “The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency”, *Animal Reproduction Science*, V. 96, (2006), 282-296.
185. Minoia, P. and Sciorsci, R.L., “Metabolic control through L calcium channel, PKC and opioid receptors modulation by an association of naloxone and calcium salts. Current Drug Targets : Immune”, *Endocrine and Metabolic Disorders*, V. 01, (2001), 131–137.
186. Cerri, R.L.A., Chebel, R.C., Rivera, F., Narciso, C.D., Oliveira, R.A., Amstalden, M., Baez Sandoval, M.G.M., Oliveira, L.J., Thatcher, W.W., and Santos, J.E.P., “Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle : II. Ovarian and uterine responses”, *J. Dairy Sci.*, V. 94, (2011), 3352-3365.
187. Lucy, M.C., “Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle”, *J. Dairy Sci.*, V. 83, (2000), 1635-1647.

188. [Kumar, V.](#), [Khalil, W.K.](#), [Weiler, U.](#), [Becker, K.](#), “Influences of incorporating detoxified *Jatropha curcas* kernel meal in common carp (*Cyprinus carpio* L.) diet on the expression of growth hormone- and insulin-like growth factor-1-encoding genes”, [Anim. Physiol. Anim. Nutr. \(Berl.\)](#), V. 97, n° 01, (2013), 97-108
189. Rey, F., Rodríguez, F.M., Salvetti, N.R., Palomar, M.M., Barbeito, C.G., Alfaro, N.S., Ortega, H.H., “Insulin-Like Growth Factor-II and Insulin-Like Growth Factor-Binding Proteins in Bovine Cystic Ovarian Disease”, *J. Comp. Path.*, V. 142, (2010), 193-204.
190. Schams, D., Berisha, B., “Steroids as local regulators of ovarian activity in domestic animals”. *Domest. Anim. Endocrinol.*, V. 23, (2002), 53-65.
191. Spicer, L.J., Chase, Jr., C.C., Rutter., L.M., “Relationship between serum insulin-like growth factors-I and genotype during the postpartum interval in beef cows”, *J. Anim. Sci.*, V. 80, (2002), 716-722.
192. Zulu, V.C., Sawamukai, Y., Nakada, K., Kida, K., Moriyoshi, M., “Relationship among insulin like growth factor-I, blood metabolites and post partum ovarian function in dairy cows”, *J. Vet. Med. Sci.*, V. 64, (2002), 879–885.
193. Chilliard, Y., Bocquier, F., Delavaud, C., Faulconnier, Y., Bonnet, M., Guerre-Millo, M., Martin, P., Ferlay, A., “La leptine chez le ruminant. Facteurs de variation physiologiques et nutritionnels”, *INRA Prod. Anim.*, V. 12, n° 03, (1999), 225-237.
194. Van der Lende, T., Te Pas, M.F., Veerkamp, R.F., Liefers, S.C., “Leptin gene polymorphisms and their phenotypic associations”, *Vitam. Horm.*, V. 71, (2005), 373–404.
195. Chemineau, P., Blanc, M., Caraty, A., Bruneau, G., Monget, P., “Sous-nutrition, reproduction et système nerveux central chez les mammifères : rôle de la leptine”, *INRA Prod. Anim.*, 12, n° 03, (1999), 217-223.
196. Bruneau, G., Vaisse, C., Caraty, A., Monget, P., La leptine : une clé pour la reproduction. *Médecine/sciences*, 15, (1999), 191-196.

197. Liefers, S.C., Veerkamp, R.F., Te Pas, M.F.W., Delavaud, C., Chilliard, Y., van der Lende, T., “Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows”, *J. Dairy. Sci.*, V. 86, (2003), 799–807.
198. Jackson, R.A., Wills, J.R., Kendall, N.R., Green, M.J., Murray, R.D., Dobson, H., “Energy metabolites in pre- and postpartum dairy cattle as predictors of reproductive disorders”, *Veterinary Record*, V. 168, (2011), 562.
199. Andersson, L., Gustafsson, A.H., Emanuelson, U., “Effect of hyperketonemia and feeding in dairy cows”, *Theriogenology*, 36, (1991), 521– 535
200. Cnop, M., Hannaert, J.C., Hoorens, A., Eizirik, D.L., Pipeleers, D.G., “Inverse relationship between cytotoxicity of free fatty acids in pancreatic islet cells and cellular triglyceride accumulation”, *Diabetes*, V. 50, (2001), 1771–1777.
201. Mason, A.L., Lau, J.Y.N., Hoang, N., Qian, K., Alexander, G.J.M. and Xu, L., “Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection”, *Hepatology*, V. 29, (1999), 328–333.
202. Thurston, L.M., Jonas, K.C., Abayasekara, D.R, Michael, A.E., “Ovarian modulators of 11 b-hydroxysteroid dehydrogenase activity in follicular fluid from bovine and porcine large antral follicles and spontaneous ovarian cysts”, *Biol. Reprod.*, V. 68, (2003), 2157-63.
203. Przewlocki, R., “Opioid Systems and Stress. Opioids II. SpringerVerlag”, Berlin (1993).
204. Palomar, M.M., Acosta, J.C., Salvetti, N.R., Barberis, F., Beldomenico, P.M., Garnerio, O., Ortega, H.H., “Treatment of cystic ovarian disease with Naloxone in high production dairy cows”, *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, V. 31, (2008), 184–186.
205. Drion, P.V., Beckers, J.F., Hanzen, Ch., “Le développement folliculaire chez la vache :2. Mécanismes hormonaux au cours du cycle et du post-partum”, *Ann. Méd. Vét.* V. 144, (2000), 385-404.
206. Sciorsci, R.L., Robbe, D., Di Matteo, A., Lacalandra, G.M. and Minoia, P., “Treatment of ovarian follicular cysts in dairy cows with epidural calcium-naloxone and systemic GnRH administration: a preliminary field study”, V. 12, n° 07 in 14th International Congress on Animal Reproduction, Estocolmo (2000).

207. Nelson, T.S., [Martin, A.D.](#) and [Olav Østerås](#). “Risk factors associated with cystic ovarian disease in Norwegian dairy cattle”. *Acta Vet. Scand.*, V. 52, n° 01, 60.
208. Grohn, Y.T., Erb, H., McCulloch, C.E., et al, “Epidemiology of reproductive disorders in dairy cattle: associations among host characteristics, disease and production”, *Prev. Vet. Med.*, V. 8, (1990), 25-39.
209. Ashmawy, A.A., Vogt, D.W., Youngquist, R.S. and Garverick, H.A., “Heritability of liability to cystic ovary development in Holstein cattle”, *J. Hered.*, V. 81, (1990), 165-166.
210. Van Dorp, T.E., Dekkers, J.C., Martin, S.W. and Noordhuizen, J.P., “Genetic parameters of health disorders, and relationships with 305-day milk yield and conformation traits of registered Holstein cows”, *J. Dairy.Sci.*, V. 81, (1998), 2264-2270.
211. Bane, A., “Fertility and Reproductive Disorders in Swedish Cattle”, *Br. Vet. J.*, V. 120, (1964), 431-441.
212. Shah, K.A., Andrabi, A., “Management of some ovarian disorders in post-partum crossbred cows”. *VetScan*, V. 07 n° 01, (2012).
213. Enginler, S.Ö., Gündüz, M.C., Serhat A. and Feraye E., “Large Follicular Cyst in a Holstein Cow”, *Pak. Vet. J.*, V. 32, n° 01, (2012), 138-140.
214. Henricson, B., “Genetical and Statistical Investigations into So-called Cystic Ovaries in Cattle”, *Acta Agriculturae Scandinavica*, V. 07, (1957), 4-93.
215. Wiltbank, J.N., Tyler, W.J. and Casida, L.E., “A Study of Atretic Large Follicles in Six Sire-Groups of Holstein-Friesian Cows”, *J. Dairy Sci.*, V. 36, (1953), 1077-1082.
216. Bosu, W.T.K., Peter, A.T., “Evidence for a role of intrauterine infections in the pathogenesis of cystic ovaries in postpartum dairy cows”, *Theriogenology*, V. 28, (1987), 725–736.
217. [Tsousis, G.](#), [Sharifi, R.](#), [Hoedemaker, M.](#), “Associations between the clinical signs of chronic endometritis with ovarian cysts and body condition loss in German Holstein Friesian cows”, *J. Vet. Sci.*, V. 10, n° 04, (Dec. 2009), 337-41.
218. Peter, A.T., Simon, J.E., Luker, C.W., et al, “Site of action for endotoxin-induced cortisol release in the suppression of preovulatory luteinizing hormone surges”, *Theriogenology*, V. 33, (1990), 637-643.

219. Isobe, N., Yamada, K., Yoshimura, Y., “Involvement of Plasma Progesterone, Oestradiol-17 β and Cortisol in Ovulatory Response to Gonadotropin-releasing Hormone in Dairy Cows with Cystic Follicles”, *Reprod. Dom. Anim.*, V. 42, (2007), 370–375.
220. Salvetti, N.R., Alfaro, N.S., Velázquez, M.M., Amweg, A.N., Matiller, V., Díaz, P.U., Ortega, H.H., “Alteration in localization of steroid hormone receptors and coregulatory proteins in follicles from cows with induced ovarian follicular cysts”, *Reproduction*, V. 144, n° 06, (Dec. 2012), 723-35.
221. Dobson, H., Ribadu AY, Noble KM, Tebble JE, Ward WR, 2000. Ultrasonography and hormone profiles of adrenocorticotrophic hormone (ACTH)-induced persistent ovarian follicles (cysts) in cattle. *J Reprod Fertil*, 120: 405–410.
222. Kaneko, H. et al. 2002. Alterations in peripheral concentrations of inhibin A in cattle studied using a time-resolved immunofluometric assay: relationship with estradiol and follicle stimulating hormone in various reproductive conditions. *Biol of Reproduction*, 67: 1, 38-45.
223. Dobson H., Smith, R.F., “What is stress, and how does it affect reproduction?”, *Animal Reproduction Science*, V. 60–61, (2000), 743–752.
224. Hanzen, Ch., Bascon, F., Theron, L., López-Gatius, F., “Les kystes ovariens dans l'espèce bovine, 3. Aspects thérapeutiques”, *Ann. Méd. Vét.*, V. 152, (2008), 103-115.
225. Kinsel, M.L. and Etherington, W.G., “Factors affecting reproductive performance in Ontario dairy herds”, *Theriogenology*, V. 50, (1998), 1221-1238.
226. Clapp, H., “Cystic Ovaries and Twinning in Holsteins”, *Cornell Vet.*, V. 24, (1934), 309-324.
227. [Silva-Del-Río, N.](#), [Colloton, J.D.](#), [Fricke, P.M.](#), “[Factors affecting pregnancy loss for single and twin pregnancies in a high-producing dairy herd](#)”, *[Theriogenology](#)*, V. 71, n° 09, (Jun. 2009), 1462-71.
228. Emanuelson, U. and Bendixen, P.H., “Occurance of cystic ovaries in dairy cows in Sweden”, *Prev. Vet. Med.*, V. 10, (1991), 261-271.
229. Roche, J.F., “The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency”, *Anim. Reprod. Sci.*, V. 96, (2006), 282-296.
230. Barga, U., “Incidence, a etiology and treatment of ovarian follicular cysts in a large dairy herd over a ten-year period”, *Isr. J. Vet. Med.*, V. 43, (1987), 56.
231. Retana-Márquez, S., Hernández, H., Flores, J., Muñoz-Gutiérrez, M., Duarte, G., Vielma, J., Fitz-Rodríguez, G., Fernández, I., Keller, M., Delgadillo, J., “Effects of

- phytoestrogens on mammalian reproductive physiology”, *Trop. Subtrop. Agroecosyst.*, V. 15, (2012), S129–S145
232. Inaba, T., Mezan, M., Shimizu, R., Nakano, Y., and Mori, J., “Plasma concentrations of beta-carotene and vitamin A in cows with ovarian cyst”, *Nippon. Juigaku. Zasshi*, V. 48, (1986), 1275-1278.
233. Akar, Y., Gazioglu, A., “Relationship between vitamin A and b-carotene levels during the postpartum period and fertility parameters in cows with and without retained placenta”, *Bull. Vet. Inst. Pulawy.*, V. 50, (2006), 93–96.
234. Harrison, J.H., Hancock, D.D., Conrad, H.R., “Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow”, *J. Dairy Sci.*, V. 67, (1984), 123–32.
235. Baitlesov, E.U., Nasibov, N.F., Khil’kevich, S.N., Titova, V.A., Tyapugin, E.A., “Etiology and pathogenesis of ovarian cysts in cows and possibility of normalizing ovarian function”, *Russian Agricultural Sciences*, V. 33, [n° 04](#), (Aug. 2007), 260-263.
236. Osawa, T., Nakao, T., Kimura, M., Kaneko, K., Takagi, H., Moriyoshi, M., Kawata, K., “[Fertirelin and buserelin compared by LH release, milk progesterone and subsequent reproductive performance in dairy cows treated for follicular cysts](#)”, *Theriogenology*, V. 44, n° 06, (15 Oct. 1995), 835-47.
237. Morrow, D.A., Robert, S.J., McEntee, K. et al, “Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle”, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, V. 149, (1966), 1596-1609.
238. López-Gatiús, F., “Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain”, *Theriogenology*, V. 60, (2003), 89-99.
239. Bender, K., Walsh, S., Evans, A.C.O., Fair, T., Brennan, L., “Metabolite concentrations in follicular fluid may explain differences in fertility between heifers and lactating cows”, *Reproduction*, V. 139, (2010), 1047–1055.
240. Sun, Y.L., Ping, Z.G., Li, G.J., Sun, Y.F., Yi, K.L., Chen, L., Li, X.Y., Wang, X.L., Zhou, X., “Comparative Proteomic Analysis of Follicular Fluids from Normal and Cystic Follicles in Sows”, *Reprod. Dom. Anim.*, V. 46, (2011), 889–895.
241. Fahiminiya, S., Gérard, N., “Le liquide folliculaire chez les mammifères”, *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, V. 38, (2010), 402–404.

242. Maniwa, J., Izumi, S., Isobe, N., Terada, T., “Studies on substantially increased proteins in follicular fluid of bovine ovarian follicular cysts using 2-D PAGE and MALDI-TOF MS”, *Reproductive Biology and Endocrinology*, V. 3, (2005), 23.
243. [Velazquez, M.M.](#), [Alfaro, N.S.](#), [Dupuy, C.R.](#), [Salvetti, N.R.](#), [Rey, F.](#), [Ortega, H.H.](#), “Heat shock protein patterns in the bovine ovary and relation with cystic ovarian disease”, *Anim. Reprod. Sci.*, V. 118, n° 2-4, (Apr. 2010), 201-9.
244. Ortega, H.H., Salvetti, N.R., Amable P., Dallard, B.E., Baravalle, C., Barbeito, C.G., Gimeno, E.J., “Intraovarian Localization of Growth Factors in Induced Cystic Ovaries in Rats”, *Anat. Histol. Embryol.*, V. 36, (2007), 94–102.
245. Haliloglu, S., Erdem, H., Serpek, B., Tekeli, T., Bulut, Z., “The Relationship Among Vitamin C, b-carotene, Vitamin A, Progesterone and Oestradiol 17-b Concentrations in Plasma and Cyst Fluid of Holstein Cows with Ovarian Cyst”, *Reprod. Dom. Anim.*, V. 43, (2008), 573–57.
246. Isobe, N., Kitabayashi, M., Yoshimura, Y., “Microvascular distribution and vascular endothelial growth factor expression in bovine cystic follicles”, *Domestic Animal Endocrinology*, V. 29, (2005), 634–645.
247. Khan, F.A., Nabi, S.U., Pande, M., Das, G.K., Sarkar, M., “Bilateral follicular cysts in a water buffalo”, *Trop. Anim. Health. Prod.*, V. 43, (2011), 539–541.
248. [Mollo, A.](#), [Stradaioli, G.](#), [Gloria A.](#) and [Cairolì, F.](#), “**Efficacy of Different Ovarian Cysts Treatments (GnRH, hCG and PRID) in Dairy Cows**”. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, V. 11, n° 21, (2012), 4058-4063.
249. Roberts, S.J., “Clinical observations on cystic ovaries in dairy cattle”, *Cornell Vet.*, 45 (4), (1955), 497-514.
250. Seguin, B.E., “Ovarian cysts in dairy cows”. In : Morow DA (ed), *Current therapy in Theriogenology*, WB Saunders, Philadelphia, (1980), 199-204.
251. Kahn, C.M., “Cystic ovary disease”, In: Kahn CM, Line S (Ed.). *The Merck Veterinary Manual*. 10th ed. Whitehouse Station, NJ: Merck, (2010), 1243-1247.

252. Cairoli, F., Vigo, D., Battochio, M., Faustini, M., Veronesi, M.C., Maffeo, G., “17 β -estradiol, progesterone and testosterone concentrations in cystic fluids and response to GnRH treatment after emptying of ovarian cysts in dairy cattle”, *Reprod. Domest. Anim.*, 37, n° 05, (2002), 294-298.
253. Lievaart, J.J., Parlevliet, J.M., Dieleman, S.J., Rientjes, S., Bosman, E., Vos, P.L., “Transvaginal aspiration as first treatment of ovarian follicular cysts in dairy cattle under field circumstances”, *Tijdschr. Diergeneeskd.*, V. 131, n° 12, (2006), 438–442.
254. Cruz, C.E.F., Combellini, L.G., Driemeier, D., “Simple procedure for emptying longterm ovarian cysts in cattle”, *Vet. Rec.*, V. 155, (2004), 599-601.
255. Viana, J.H.M., Nascimento, A.A., Pinheiro, N.L., Ferreira, A.M., Camargo, L.S.A., Marques Junior, A.P, “Caracterizacao de sequelas subsequentes a puncao follicular em bovinos”, *Pesqui. Vet. Bras.*, V. 23, (2003), 119-124.
256. Amiridis, G.S., “Comparison of aspiration and hormonal therapy for the treatment of ovarian cysts in cows”, *Acta. Vet. Hung.*, V. 57, (2009), 521 - 529.
257. De Rensis, F., López-Gatiús, F., García-Ispuerto, I. and Techakumpu, M., “Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: an update”, *Theriogenology*, V. 73, n° 08, (2010), 1001-1008.
258. Greenwald, G.S, “Development of ovulatory refractoriness in the rabbit to cyclic injections of human chorionic gonadotropin”, *Fertility and Sterility*, V. 21, (1970), 163-168.
259. [Nakao, T.](#), [Numata, Y.](#), [Kubo, M.](#), [Yamauchi, S.](#), “Treatment of cystic ovarian disease in dairy cattle”, [Cornell Vet.](#), V. 68, n° 02, (Apr. 1978), 161-78.
260. Kittok, R.J., Britt, J.H. and Convey, E.M., “Endocrine response after GnRH in luteal phase cows and cows with ovarian follicular cysts”, *J. Anim. Sci.*, V. 37, (1973), 985-989.
261. Garverick, H.A., Kesler, D.J., Cantley, T.C., Elmore, R.G., Youngquist, R.S. and Bierschwal, C.J., “Hormone response of dairy cows with ovarian cysts after treatment with hCG or GnRH”, *Theriogenology*, V. 06, (1976), 413-425.
262. Nesson, G.K., King, G.J., McKay, G.W., Thomson, J.D., Bertrand, W., “Treatment of cystic ovarian degeneration in dairy cows with gonadotropic releasing hormone ort human chorionic gonadotrophin hormone”, *Can.Vet.J.*, V. 18, (1977), 33-37.

263. [Rizzo, A.](#), [Cosola, C.](#), [Mutinati, M.](#), [Spedicato, M.](#), [Minoia, G.](#), [Sciorsci, R.L.](#), “Bovine ovarian follicular cysts : in vitro effects of lecirelin, a GnRH analogue”, [Theriogenology](#), V. 74, n° 09, (Dec. 2010), 1559-69.
264. Peter, A.T., “[An update on cystic ovarian degeneration in cattle](#)”, *Reprod. Domest. Anim.*, V. 39, n° 01, (Feb. 2004), 1-7. Review.
265. [El-Tahawy, Ael-G.](#), [Fahmy, M.M.](#), “Partial budgeting assessment of the treatment of pyometra, follicular cysts and ovarian inactivity causing postpartum anoestrus in dairy cattle”, [Res. Vet. Sci.](#), V. 90, n° 01, (Feb. 2011), 44-50.
266. Ruginosu1, E., Sofronie, M., Borș, I., Creangă, Șt., Dascălu, L., “Studies On Treatments Results From Cows With Ovarian Disorders In Relation To Year And Season”, *Cercetări Agronomice In Moldova*, V. Xlv , n° 03, (2012), 151.
267. White, M.E., Erb, H., “Treatment of ovarian cysts in dairy cattle. A decision analysis”, *Cornell Vet.*, V. 70, (1980), 247-257.
268. Leslie, K.E., Bosu, W.T.K., “Plasma progesterone concentrations in dairy cows with cystic ovaries and clinical responses following treatment with fenprostalene”, *Can. Vet. J.*, V. 24, (1983), 352-356.
269. Dinsmore, R.P., White, M.E., and English, P.B., “An evaluation of simultaneous GnRH and cloprostenol treatment of dairy cattle with cystic ovaries”, *Can. Vet. J.*, V. 31, n° 04, (Apr. 1990), 280-284.
270. Archbald, L.F., Norman, S.N., Tran, T., Lyle, S. and Thomas, P.G.A., “Does GnRH work as well as GnRH and PGF2a in the treatment of ovarian follicular cysts?”, *Vet. Med.*, (1991), 1037-1040.
271. López-Gatius, F., López-Bejar, M., “Reproductive performance of dairy cows with ovarian cysts after different GnRH and cloprostenol treatments”, *Theriogenology*, V. 58, (2002), 1337-1348.
272. Hanzen, Ch., Boudry, B., Drion, P.V., “Effets du protocole GPG sur l’activité ovarienne”, *Point Vét.*, V. 237, (2003), 26-30.
273. Hanzen, Ch., Boudry, B., Bouchard, E., “Protocole GPG et succès de reproduction”, *Point Vét.*, V. 238, (2003), 50-54.
274. Šťastná, D., Šťastný, P., “Efficiency Of Treatment Of Follicular Cysts In Cows”, *Slovak J. Anim. Sci.*, V. 45, n° 04, 118-122.

275. Bartolome, J., Hernandez, J., Sheerin, P., et al, "Effect of pretreatment with bovine somatotropin (bST) and/or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) on conception rate of dairy cows with ovarian cysts subjected to synchronization of ovulation and timed insemination", *Theriogenology*, V. 59, (2003), 1991-1997.
276. Mc Dowell, C.M., Anderson, L.H., Kinder, J.E., Day, M.L, "Duration of treatments with progesterone and regression of persistent ovarian follicles in cattle", *J. Anim. Sci.*, V. 76, (1998), 850-855.
277. Todoroki, J., Kaneko, H., "Formation of follicular cysts in cattle and therapeutic effects of controlled internal drug release", *J. Reprod. Dev.*, V. 52, n° 01, (Feb. 2006), 1-11.
278. Iwakuma, A., Suzuki, Y., Haneishi, T., Kajisa, M., Kamimura, S., "Efficacy of intravaginal progesterone administration combined with prostaglandin F(2alpha) for cystic ovarian disease in Japanese Black cows", *J. Vet. Med. Sci.*, V. 70, (2008), 1077-1083
279. Kawate, N., Watanabe, K., Uenaka, K., Takahashi, M., Inaba, T., Tamada, H., "Comparison of Plasma, and Conception in Dairy Cows with Cystic Ovarian Diseases between Ovsynch and Ovsynch plus CIDR Timed AI Protocols", *J. Reprod. Dev.*, V. 57, (2011), 267-272.
280. Ribadu, Ay., Nakada, K., Moriyoshi, M., Zhang, Wc., Tanaka, Y., Nakao, T., "The role of LH pulse frequency in ACTH-induced ovarian follicular cysts in heifers", *Animal Reproduction Science*, V. 64, (2000), 21-31.
281. Zaiid, A.A., Garverick, H.A., Bierschwal, C.J., Elmore, R.G., Youngquist, R.S., Sharp, A.J., "Effect of ovarian activity and endogenous reproductive hormones on GnRH-induced ovarian cycles in postpartum dairy cows", *J. Anim. Sci.*, V. 50, (1980), 508-13.
282. Richardson, G.F., Archbald, L.F., Galton, D.M., Godke, R.A, "Effect of gonadotropin releasing hormone and prostaglandin F2alpha on reproduction in postpartum dairy cows", *Theriogenology*, V. 19, (1983), 763-770.
283. Noseir, W.M.B., Metwally, K.K., Shaker, N.N., "Using Double Dose of GnRH for Reducing Incidence of Cystic Ovaries in Cows", *A.J.V.S.*, V. 39, n° 01, (2013), 124-132.

284. Hatipoglu, F., Ortatagli, M., Kiran, M.M., Erer, H. and Çiftci, M.K., “An Abattoir Study of Genital Pathology in Cows : II. Uterus, Cervix and Vagina”, *Revue Méd. Vét.*, V. 153, n° 02, (2002), 93-100.
285. Abalti, A., Bekana, M., Woldemeskel, M., Lobago, F., “Female genital tract abnormalities of Zebu cattle slaughtered at Bahir-Dar Town, north-west Ethiopia”, *Trop Anim. Health Prod.*, V. 38, (2006), 505–510.
286. Lagerlof, N. and Boyd, H., “Ovarian hypoplasia and other abnormal conditions in the sexual organs of cattle of the Swedish Higland breed: results of postmortem examination of over 6000 cows”, *Cornell Veterinarian*, V. 43, (1953), 52–64.
287. Mylréa, P.J., “Macroscopic lesions in the genital organs of cows”, *Australian Vet. Journal*, V. 38, (1962), 457-461.
288. Alam, M.G.S., “Abattoir studies of genital diseases in cows”, *Vet. Rec.*, V. 114, (1984), 1958.
289. Perkins, J.R., Olds, D. et Seath, D.M., “A study of 1000 bovine genitalia”, *J. Dairy Sci.*, V. 37, (1954), 1158-1163.
290. Al-Dahash, S.Y.A., David, J.S.E., “The incidence of ovarian activity, pregnancy and bovine genital abnormalities shown by an abattoir survey”, *Vet. Rec.*, V. 101, (1977), 296–299.
291. Vale, W.G., Ohashi, O.M., Ribiero, H.F.L. and Sousa, J.S., “Causes and incidence of infertility and subfertility in zebu crossbred cows in the Amazon region of Brazil”, *Veterinary Medical Review*, V. 2, (1984), 133-143.
292. Kaidi, R., “The uterine involution in the cow”, Thèse de Doctorat Vét., Vet. school, Langford, Bristol, UK, (1989).
293. David, J.S.E., Bishop, M.W.H, Cembrowicz H.J., “Reproductive expectancy and infertility in cattle”, *Vet. Rec.*, V. 89, (1971), 181-185.
294. Drennan, W.G., Macpherson, J.W., “The reproductive tract of bovine slaughter heifers (a biometrical study)”, *Can. J. Comp. Med. And Vet. Sci.*, V. 30, (1966), 224-247.
295. Vallet, A., Carteau, M., Salmon, A., Chatelin, Y., “Epidémiologie des endométrites des vaches laitières”, *Rec. Méd. Vet.*, V. 163, (1987), 189-194.
296. Herenda, D., “An abattoir survey of reproductive organ abnormalities in beef”, *Can. Vet. Journal.*, V. 28, (1987), 33-37.

297. McEntee, K., “Reproductive Pathology of Domestic Mammals”, Academic Press, 1st ed., 401, New-York, (1990).
298. Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer, N., “The Female Genital System”, *Pathology of Domestic Animals*, Academic Press, 3rd ed. 305-377, New-York, (1985).
299. Arthur, G.H., Noakes, D.E., Pearson, H., “Veterinary Reproduction and Obstetrics (Theriogenology)”, 5th ed. London, Bailliere Tindall, (1982), 304-305.
300. Nash, A.S., McCandlich, I.A.P., Renton, J.P., “Hydrometra in two cats”, *J. small. Anim. Pract.*, V. 27, (1986), 265-271.
301. Roberts, S.J. and Fox, S.H., “An unusual case of bovine mucometra associated with a persistent corpus luteum”, *Cor. Vet. J.*, V. 58, (1968), 116
302. Kennedy, P.C. and Miller, R.B., “The Female Genital System”, In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. and Palmer N. (Fourth Edition). *Pathology of Domestic Animals*, (V. 03). Academic Press, (San Diego), (1993), 349-454.
303. Hatipoglu, F., Kiran, M.M., Ortatli, M., Erer H. and Çiftci, M.K., “An Abattoir Study of Genital Pathology in Cows: I. Ovary and Oviduct”, *Revue Méd. Vét.*, V. 153, n° 01, (2002), 29-33.
304. Fieni, F., “Pathologie des oviducts”, *Dep. Vet.*, V. 64 (N° spécial), (1999), 10-14.
305. Kessy, B., Noakes, D.E., “Uterine tube abnormalities as a cause of bovine infertility”, *Vet. Rec.*, V. 117, (1985), 122-124.
306. Ball, P.J.H. and Peters, A.R., “Reproduction in cattle. Blackwell Publishing”, Third edition, (2004), 174-178.
307. Roine, K., “Observation in genital abnormalities in dairy cows using slaughterhouse material”, *Nordisk Vet. Medicine*, V. 29, (1977), 188-193.
308. Vandeplassche, M., “Fertilité des bovins, Manuel à l’intention des pays en développement”, FAO, Organisation des nations unies pour l’alimentation et l’agriculture, Rome, (1985), 36-37.
309. Elmarimi, A., “Effect of genital tract disorders on the performance of Libyan dairy cows”, XVIème congrès Vét. Maghrébin, Marakech, 6 et 7 mai, 1999, 22.
310. Pérez-Martinez, C., Dura’n-Navarrete, A.J., Garcí’a-Ferna’ndez, R.A., Espinosa-Alvarez, J., Escudero Diez, A. and Garcí’a-Iglesias, M.J., “Biological Characterization

- of Ovarian Granulosa Cell Tumours of Slaughtered Cattle: Assessment of Cell Proliferation and Oestrogen Receptors”, *J. Comp. Path. Vol.*, V. 130, (2004), 117-123.
311. Švara, T., Gombač, M., Juntas, P., Pogačnik, M., “Malignant Ovarian Granulosa Cell Tumour in a Ewe”, *Acta Vet. Brno*, V. 78, (2009), 281–285.
312. Nielsen, W.S., Misdorp, W., McEntee, K., “XV Tumours of the ovary”, *Bull. World Health Organ.*, V. 53, (1976).
313. Yener, Z., Karaca, F., Alan, M., “Serous papillary cystadenoma in the ovary of a cow”, *Australian Veterinary Journal*, V. 82, n° 12, (2004).
314. Hanzen, Ch., “Pathologies du tractus génital femelle des ruminants”, Cours de la 2^{ème} année Doctorat, Université de Liège, Faculté de médecine vétérinaire, service de Thériogenologie des animaux de production, chapitre 20, (2006), 3-10.
315. Feyissa, T., “A study on gross and histopathological abnormalities of cows slaughtered at Addis Ababa abattoir”, D.V.M. thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Addis Ababa University, Debre Zeit, Ethiopia (2000).
316. Hanzen, Ch., “Etude des facteurs de risque de l’infertilité et des pathologies puerpérales et du post-partum chez la vache laitière et la vache viandeuse”, Thèse pour l’obtention du grade d’Agrégé de l’Enseignement supérieur, Liège, (1994), 287.
317. Lüllman-Rauch, R., “Histologie”, édition De Boeck, France, (2008), 508-509.
318. Thibier, M. et Humblot, P., “L’utérus et le cycle sexuel”, In. CONSTANTIN et MEISSONNIER Editeurs, L’utérus de la vache, Maisons-Alfort : Société Française de Buiatrie, (1981), 53-78.
319. Samuelson, Don. A., “Textbook of Veterinary Histology”, Edition Saunders Elsevier, (2007).
320. Bearden, H.J., Fuquay, W.J., “Endocrine Regulators of Reproduction (Chapter 4) in Applied Animal Reproduction”, fourth edition, Prentice Hall, New Jersey, USA, (1997).
321. Ben-Rafael, Z., Meloni, F., Strauss, J.F. 3rd, Blasco, L., Mastroianni, Jr., Flickinger, G.L., “Relationships between polypronuclear fertilization and follicular fluid hormones in gonadotropin-treated women”, *Fertil. Steril.*, V. 47, (1987), 284-288.
322. Kor, N.M., Khanghah, K.M., Veisi, A., “Follicular Fluid Concentrations of Biochemical Metabolites and Trace Minerals in Relation to Ovarian Follicle Size in Dairy Cows”, *Annual Review & Research in Biology*, V. 03, n° 04, (2013), 397-404.

323. Leroy, J.L.M.R., Vanholder, T., Delanghe, J.R., Opsomer, G., Van Soom, A., Bols, P.E.J., De Wulf, J., de Kruif, A., “Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post-partum”, *Theriogenology*, V. 62, (2004), 1131–1143.
324. Samuel S.C.Y., Jaffe, R.B., Barbieri, R.L., “Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management”, Saunders, (1999), 839.
325. Hamilton, S.A., Garverick, H.A., Keisler, D.H., Xu, Z.Z., Loos, K., Youngquist, R.S., Salfen, B.E, “Characterization Of Ovarian Follicular Cysts And Associated Endocrine Profiles In Dairy Cows”, *Biol. Reprod.*, V. 53, (1995), 890-898.
326. Ortega , H.H., Salvetti, N.R., Müller, L.A., Barbeito, C.G., Amable, P. and Gimeno, E.J., “Characterization of Cytoskeletal Proteins in Follicular Structures of Cows with Cystic Ovarian Disease”, *J. Comp. Path.*, V. 136, (2007), 222-230
327. Baravalle, C., Salvetti, N.R., Mira, G.A., Lorente, J.A., Ortega, H.H., “The Role of ACTH in the Pathogenesis of Polycystic Ovarian Syndrome in Rats: Hormonal Profiles and Ovarian Morphology”, *Physiol. Res.*, V. 56, (2007), 67-78.
328. Caulet-Mogendre, S., “Immunohistochimie : Aspects techniques actuels ; Applications pratiques et scientifiques en anatomie et cytologie pathologiques”, *Rev. Fr. Histotechnol.*, V. 12, n° 01, (1999), 23- 34.
329. Genton, C.Y., “L'immunohistochimie : Son principe, ses applications et ses limites”, *Clinics in Mother and Child Health* V. 03, n° 01, (2006), 477-481.
330. Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L., “Clinical biochemistry of domestic animals”, Academic Press, San Diago, USA, (1997), 932.
331. Spicer. L.J., Chamberlain, C.S., “Influence of Cortisol on Insulin- and Insulin-Like Growth Factor 1 (IGF-1)-Induced Steroid Production and on IGF-1 Receptors in Cultured Bovine Granulosa Cells and Thecal Cells”, *Endocrine*, V. 09, n° 02, (1998), 153–161.
332. Iwata, H., Inoue, J., Kimura, K., Kuge, T., Kuwayama, T., Monji, Y., “Comparison between the characteristics of follicular fluid and the developmental competence of bovine oocytes”, *Animal Reproduction Science*, V. 91, (2006), 215–223.

333. Nishimoto, H., Hammano, S., Hill G.A., Miyamoto, A., Tetsuka, M., “Classification of Bovine Follicles Based on the Concentration of Steroids, Glucose and Lactate in Follicular Fluid and the Status of Accompanying Follicles”, *Journal of Reproduction and Development*, V. 55, (2009), 219-224.
334. Bellier S., “Interprétation et valeurs usuelles des paramètres sanguins en biochimie clinique vétérinaire”, *Revue Francophone Des Laboratoires*, n° 420, (Mar. 2010).
335. Tabatabaei, S., Mamoei, M., Aghaei, A., “Dynamics of ovarian follicular fluid in cattle”. *Comp. Clin. Pathol.*, V. 20, (2011), 591-595.
336. Aller, J.F., Callejas, S.S., Alberio, R.H., “Biochemical and steroid concentrations in follicular fluid and blood plasma in different follicular waves of the estrous cycle from normal and superovulated beef cows”, *Animal Reproduction Science*, V. 142, (2013), 113-120.
337. Acar Baki, D., Birdane, M.K., Dogan, N., Gurler, H., “Effect of the stage of estrous cycle on follicular population, oocyte yield and quality, and biochemical composition of serum and follicular fluid in Anatolian water buffalo”, *Animal Reproduction Science*, V. 137, (2013), 8-14.
338. Shabankareh, H.K., Kor, N.M., Hajarian, H., “The influence of the corpus luteum on metabolites composition of follicular fluid from different sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows”, *Animal Reproduction Science*, V. 140, (2013), 109-114.
339. Alves, B.G., Alves, K.A., Lúcio, A.C., Martins, M.C., Silva, T.H., Alves, B.G., Braga, L.S., Silva, T.V., Viu, M.A.O., Beletti, M.E., Jacomini, J.O., Santos, R.M., Gambarini, M.L., “Ovarian activity and oocyte quality associated with the biochemical profile of serum and follicular fluid from Girolando dairy cows postpartum”, *Animal Reproduction Science*, V. 146, (2014), 117–125.
340. Hein, G.J., Panzani, C.G., Rodríguez, F.M., Salvetti, N.R., Díaz, P.U., Gareisa, N.C., Benítez, G.A., Ortega, H.H., Rey, F., “Impaired insulin signaling pathway in ovarian follicles of cows with cystic ovarian disease”, *Animal Reproduction Science*, V. 156, (2015), 64–74.
341. Mason, H., Franks, S., “Local control of ovarian steroidogenesis”, *Clin. Obstet. Gynaecol.*, V. 11, (1997), 261–279.
342. Terranova, P.F., Rice, V.M., “Review : cytokine involvement in ovarian processes”, *Am. J. Reprod. Immunol.*, V. 37, n° 01, (Jan. 1997), 50-63.

343. DesCôteaux, L., Harvey, D., Girard, Ch., “Tumeur des cellules de la granulosa chez une taure: observations cliniques, endocrinologiques et post-mortem”, *Can. Vet. J.*, 30, (1989), 501-503.
344. Ghoneim, I.M., Waheed, M.M., El-Bahr, S.M., Alhaider, A.K., Al-Ekna, M.M., “Comparison of some biochemical and hormonal constituents of oversized follicles and preovulatory follicles in camels (*Camelus dromedarius*)”, *Theriogenology*, V. 79, (2013), 647–652.
345. Rufai, N., Razzaque, W.A.A., Shah, A., “Biochemical Parameters of Follicular Fluid in Cyclic and Acyclic Sheep”, *VETSCAN*, Article 121, V. 07, n° 02, (2013).
346. Diskin, M.G., Mackey, D.R., Roche, J.F., Sreenan, J.M., “Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle”, *Animal Reproduction Science*, V. 78, (2003), 345–370.
347. Spicer, L.J. & Echternkamp, S.E., “The ovarian insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals”, *Domestic Animal Endocrinology*, V. 12, (1995), 223–245.
348. [Fortune, J.E.](#), [Rivera, G.M.](#), [Yang, M.Y.](#), “Follicular development : the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle”, [Anim. Reprod. Sci.](#), V. 82-83, (Jul. 2004), 109-26.
349. Kawashima, C., Fukihara, S., Maeda, M., Kaneko, E., Montoya, C.A., Matsui, M., Shimizu, T., Matsunaga, N., Kida, K., Miyake, Y.I., Schams, D., Miyamoto, A., “Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wavepost-partum in high-producing dairy cows”, *Reproduction*, V. 133, (2007), 155–163.
350. Obese, F.Y., Martin, G.B., Blackberry, M.A., Ayim-Akonor, M., Gomda, Y., “Upgrading local cattle in tropical West Africa: Metabolic hormone concentrations during the post-partum period in Sanga and Friesian–Sanga crossbred cows”, *Livestock Science*, V. 171, (2015), 84–92.
351. Kouamo, J., Leye, A., Ouedraogo, G.A., Sawadogo, G.J., Benard, P., “Influence des paramètres énergétiques, protéiques et minéraux sur la réussite de l’insémination artificielle bovine en élevage traditionnel dans la région de Thiès au Sénégal”, *Revue Méd. Vét.*, V. 162, n° 8-9, (2011), 425-431.

352. Arshad, H.M., Ahmad, N., Zia-ur-Rahman, Samad, H.A., Akhtar, N., Ali, S., “Studies On Some Biochemical Constituents Of Ovarian Follicular Fluid And Peripheral Blood In Buffaloes”, *Pakistan Vet. J.*, V. 25, n° 04, (2005).
353. Abd Ellah, M.R., Hussein, H.A., Derar, D.R., “Ovarian Follicular Fluid Constituents in Relation to Stage of Estrus Cycle and Size of the Follicle in Buffalo”, *Veterinary World*, V. 3, n° 06, (2010), 263-267.
354. Kor, N.M., Moradi, K., “A Review of Biochemical Metabolites Concentration and Hormonal Composition of Ovarian Follicular Fluid in Domestic Animals”, *Annual Review & Research in Biology*, V. 3, n° 03, (2013), 246-255.
355. Gonzalez, F.H.D., Rocha, J.A.R. Da, “Metabolic Profile Variations and Reproduction Performance in Holstein Cows of Different Milk Yields in Southern Brazil”, *Arq. Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre*, V. 26, n° 10, (1998).
356. Poncet, J., “Etude Des Facteurs De Risque De L’infertilite Dans Les Elevages Bovins Laitiers De L’ile De La Reunion : Influence De L’alimentation Sur La Reproduction”, Thèse d’exercice, ENVT, Toulouse, (2002), 145.
357. El-Sayed A.A., El-Fishawy, F.A., El-Geddawy, M.A., Kurz, T., et al., “The Changes in the Lipid Composition of Mung Bean Seeds as Affected by Processing Methods”, *International Journal of Food Engineering*, V. 03 n° 05, (2008).
358. Rabiee, A.R., Lean, I.J., “Uptake of glucose and cholesterol by the ovary of sheep and cattle and the influence of arterial LH concentrations”, *Animal Reproduction Science*, V. 64, (2000), 199-209.
359. Westwood, C.T., Lean, I.J., Garvin, J.K., “Factors Influencing Fertility of Holstein Dairy Cows : A Multivariate Description”, *J. Dairy Sci.*, V. 85, n° 12, (2002), 3225-37.
360. Kappel, L.C., Ingraham, R.H., Morgan, E.B. et al, “Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows”, *Am. J. Vet. Res.*, V. 45, (1984), 2607-2612.
361. Thillard, E., Humblot, P., Faye, B., “Impact des déséquilibres énergétiques post-partum sur la fécondité des vaches laitières à la Réunion”, *Renc. Rech. Ruminants*, V. 10, (2003), 127-130.
362. Hyder, M.A., Marghoob, H., Abdelmarouf, H.M., “Comparative Levels of ALT, AST, ALP and GGT in Liver associated Diseases”, *European Journal of Experimental Biology*, V. 3, n° 02, (2013), 280-284.

363. Ropstad, E., Larsen, H.J. and Refsdal, A.O., “Immune function in dairy cows related to energy balance and metabolic status in early lactation”, *Acta. Vet. Stand.*, V. 30, (1989), 209-219.
364. [Sattler, T., Füll, M.](#), “[Creatine kinase and aspartate aminotransferase in cows as indicators for endometritis](#)”, *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.*, V. 51, n° 03, (Apr. 2004), 132-7.
365. Nandi, S., Girish, K.V., Manjunatha, B.M., Gupta, P.S.P., “Biochemical composition of ovine follicular fluid in relation to follicle size”, *Develop. Growth Differ.* V. 49, (2007), 61–66.
366. Wise, T., “Biochemical Analysis of Bovine Follicular Fluid : Albumin, Total Protein, Lysosomal Enzymes, Ions, Steroids and Ascorbic Acid Content in Relation to Follicular Size, Rank, Atresia Classification and Day of Estrous Cycle”, *J. Anim. Sci.*, V. 64, (1987), 1153-1169.
367. Kawate, N., Inaba, T. and J. Mori, “Effects of cortisol on the amounts of estradiol-17 β and progesterone secreted and the number of luteinizing hormone receptors in cultured bovine granulosa cells”, *Animal Reproduction Science*, V. 32, n° 15-25, (1993), 15.
368. Cairoli, F., Comin, A., Socca, S., Fazzini, U., De Amicis, I., Battocchio, M., “Hormonal and metabolic profiles in post-partum ovarian cysts in dairy cows”, *Vet. Res. Commun.*, V. 32, n° 01, (2008), S123–S125.
369. Vagneur, M., “Qu’est ce qu’une ration équilibrée. Comment juger des effets d’une ration chez la vache laitière”, *In : SNGTV (ed.)., Pathologie et nutrition. Journées nationales des GTV, Angers*, (1996), 47-51.
370. Zulu, V.C., Sawamukai, Y., Nakada, K., Kida, K., Moriyoshi, M., “Relationship among insulin like growth factor-I, blood metabolites and post partum ovarian function in dairy cows”, *J. Vet. Med. Sci.*, V. 64, (2002), 879-885.
371. Moussa, M., Shu, J., Zhang, X.H., Zeng, F., “Maternal control of oocyte quality in cattle”, a review, *Animal Reproduction Science*, V. 155, (2015), 11–27.
372. Shehab-El-Deen, M.A.M.M., Leroy, J.L.M.R., Fadel, M.S., Saleh, S.Y.A., Maes, D., Van Soom, A., “Biochemical changes in the follicular fluid of the dominant follicle of high producing dairy cows exposed to heat stress early post-partum”, *Animal Reproduction Science*, V. 117, (2010), 189–200.

373. Ferguson, J.D., Galligan, D., Blanchard, T., “Serum ureal nitrogen and conception rate : the usefulness of test information”, *J. Dairy Sci.*, V. 76, (1993), 3742-3746.
374. Kaufmann, T.B, Drillich, M., Tenhagen, B.A., Heuwieser, W., “Correlations between periparturient serum concentrations of non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyric acid, bilirubin, and urea and the occurrence of clinical and subclinical postpartum bovine endometritis”, *BMC Veterinary Research*, V. 6, n° 47, (2010).
375. Butler, W.R., “Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. In: Fertility in the high-producing dairy cow”, BSAS Occasional Publication, V. 01, (2001), 133–145.
376. Van den Hurk, R., Dijkstra, G., Van Mil, F. N., Hulshof, S. C. and Van den Ingh, S. G., “Distribution of the intermediate filament proteins vimentin, keratin, and desmin in the bovine ovary”, *Molecular Reproduction and Development*, V. 41, (1995), 459-467.
377. Baravalle, C., Salvetti, N.R., Mira, G.A., Pezzone, N., Ortega, H.H., “Microscopic Characterization of Follicular Structures in Letrozole-induced Polycystic Ovarian Syndrome in the Rat”, *Archives of Medical Research*, V. 37, (2006), 830–839.
378. Salvetti, N.R., Gimeno, E.J., Lorente, J.A. and Ortega, H.H., “Expression of cytoskeletal proteins in the follicular wall of induced ovarian cysts”, *Cells Tissues Organs*, V. 178, (2004), 117-125.
379. Hazzard, T.M., Stouffer, R.L., “Angiogenesis in ovarian follicular and luteal development”, *Baillieres Clin. Obstet. Gynaecol.*, V. 14, (2000), 883–900.
380. Jiang, J.Y., Macchiarelli, G., Tsang, B.K., Sato, E., “Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles”, *Reproduction*, V. 125, (2003), 211–23.
381. Espey, L.L., “Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction”, *Biology of Reproduction*, V. 50, (1994), 233-238.
382. Brännström, M., Lind, A.K., Dahm-Keahler, P., “Ovulation : a molecular view”, In: *Reproductive Endocrinology and Infertility : Integrating Modern Clinical and Laboratory Practice*, DT Carrell, CM Peterson, Eds., Springer Science Business Media, New York, (2010), 119-131.
383. Shimizu, T., Miyamoto, A., “Progesterone induces the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) 120 and Flk-1, its receptor, in bovine granulosa cells”, *Animal Reproduction Science*, V. 102, (2007), 228–237.

384. Ferrara, N., Gerber, H.P., LeCouter, J., “The biology of VEGF and its receptors”, *Nat. Med.*, V. 9, n° 06, (Jun. 2003), 669-76.
385. Isobe, N., Kitabayashi, M., Yoshimura, Y., “Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Receptors in Bovine Cystic Follicles”, *Reprod. Dom. Anim.*, V. 43, (2008), 267–271.
386. Townson, D.H., Combelles, M.H., “Ovarian Follicular Atresia”, *Basic Gynecology – Some Related Issues*, Edited by Prof. Atef Darwish, (2012).
387. Okuda, K., Korzekwa, A., Shibaya, M., Murakami, S., Nishimura, R., Tsubouchi, M., Woclawek-Potocka, I., Skarzynski, D.J., “Progesterone Is a Suppressor of Apoptosis in Bovine Luteal Cells”, *Biology Of Reproduction*, V. 71, (2004), 2065–2071.
388. Robertson, D., Cahir, N., Findlay, J.K., Burger, H.G. & Groome, N., “The biological and immunological characterisation of inhibin A and B forms in human follicular fluid and plasma”, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, V. 82, (1997), 889–896.
389. Li, W., Sun, L., Chen, S., Lu, C., Liu, Z., Hou, X., Chen, C., Han, Y., Wang, C., Li, C., Zhou, X., “Association of Inhibin- α Gene Polymorphisms with Follicular Cysts in Large white Sows”, *Theriogenology*, V. 84, n° 06, (2015), 839-45.
390. Stangaferro, M.L., Matiller, V., Díaz, P.U., Ortega, H.H., Rey, F., Rodríguez, F.M., Silva, M.A., Salvetti, N.R., “Role of activin, inhibin, and follistatin in the pathogenesis of bovine cystic ovarian disease”, *Animal Reproduction Science*, V. 148, (2014), 97–108.
391. Han, L., Canjie, W., Hasan, R., Liya, B., Jianguo, C., Yanhong, Z., Aizhein, G., Ligu, Y., “Characterization of the Mechanism of Inhibin α -Subunit Gene in Mouse Anterior Pituitary Cells by RNA Interference”, *Plos One*, V. 8, n° 10, (Oct. 2013).
392. Rauch, A., Krüger, L., Miyamoto, A., Bollwein, H., “Colour Doppler Sonography of Cystic Ovarian Follicles in Cows”, *J. Reprod. Dev.*, V. 54, (2008), 447-453.
393. Institut Technique de l’Arboriculture Fruitière et de la Vigne, Tessala El Merdja - Birtouta –Alger, Algérie (2013).
394. Chastant-Maillard, S., “Intérêt de l’échographie des kystes ovariens”, *Point. vet.*, V. 303, (2010), 49-53.
395. Edmonson, A.J., et al., “A body condition scoring chart for Holstein cows”, *Journal of Dairy Science*, V. 72, (1989), 68-78.

396. Bazin, S., "Grille de notation de l'état d'engraissement des vaches montbéliardes", *ITEB-RNED., Paris*, (1989), 27.
397. Kim, S., Kengaku, K., Tomomi, T., Kamomae, H., "The Therapeutic Effects of a Progesterone-Releasing Intravaginal Device (PRID) with Attached Estradiol Capsule on Ovarian Quiescence", *V. 50, n° 03*, (Jun. 2004), 341-8.
398. Duffield, T.F., "Subclinical ketosis in lactating dairy cattle", *Veterinary Clinic of North America, Food Animal Practice*, *V. 16*, (Jul. 2000), 231-253.
399. Cuvelier, C., Cabaraux, J.F., Dufrasne, I., Istasse, L., Hornick, J.L., "Transport sanguin et métabolisme hépatique des acides gras chez le ruminant", *Ann. Méd. Vét.*, *V. 149*, (2005), 117-131.
400. Ferguson, J.D., "Diet, production and reproduction in dairy cows", *Anim. Feed. Sci. Technol.*, *V. 59*, (1996), 173-184.
401. Brugère-Picoux, J., "Maladies métaboliques et biochimie Clinique de la vache laitière", *La dépêche technique*, *V. 46*, (1995), 30.
402. Smith, B.P., "Large animal internal medicine. Diseases of horses, cattle, sheep and goats", *St Louis (MI, USA) : CV Mosby Company*, (1990), 1787.
403. Sutton-McDowall, M.L., Yelland, R., MacMillan, K.L., Robker, R.L., Thompson, J.G. A., "Study relating the composition of follicular fluid and blood plasma from individual Holstein dairy cows to the in vitro developmental competence of pooled abattoir-derived oocytes", *Theriogenology*, *V. 82*, (2014), 95-103.
404. Wiltbank, M.C., Gümen, A., Sartori, R., "Physiological classification of anovulatory conditions in cattle", *Theriogenology*, *V. 57*, (2002), 21-52.
405. Opsomer, G., Wensing, T.h., Laevens, H., Coryn, M., De Kruif, A., "Insulin resistance : the link between metabolic disorders and cystic ovarian disease in high yielding dairy cows?", *Animal Reproduction Science*, *V. 56*, (1999), 211-222.
406. Tanabe, T.Y., Brofee, R.D., "Treatment of cystic ovarian follicles in dairy cows with chorionic gonadotropin", *Theriogenologie*, *V. 18, n° 05*, (Nov. 1982), 497-512.
407. Waltner, S.S., McNamara, J.P., Hillers, J.K., "Relationships of body condition score to production variables in high producing Holstein dairy cattle", *J. Dairy Sci.*, *V. 76*, (1993), 3410-3419.
408. Drame, E.D., Hanzen, Ch., Houtain, J.Y., Laurent, Y. and Fall, A., "Evolution of body condition scoring after calving in dairy cows", *Ann. Med. Vet.* *V. 143*, (1999), 265.

409. Veronesi, M.C., Battocchio, M., Cairoli, F., Comin, A., Isola, M., "Recovery rate and recovery time in cows with luteal and follicular ovarian cysts after treatment with buserelin", [Vet. Res. Commun.](#), V. 27, n° 01, (Sep. 2003), 631-3
410. Mujuni, P.F., Mgongo, F.O.K., Kanuya, N.L., "Ovarian cysts, a postpartum ovarian disorder affecting dairy cows in a tropical area", *Animal Reproduction Science*, V. 31, (1993), 175-186.
411. Brown, J.L., Schoenemann, H.M., Reeves, J.J., "Effect of FSH treatment on LH and FSH receptors in chronic cystic ovarian diseased dairy cows", *J. Anim. Sci.*, V. 62, (1986), 1063- 1071.
412. Hugel, U., Humke, R., "Clinical trials on the treatment of ovarian cysts in cattle with LH- releasing hormones. Comparison of the action of LHRH and a highly active analogue". *Tierarztl Umsch*, V. 34, (1979), 562- 565.
413. Lucy, M.C., "Fertility in high-producing dairy cows : reasons for decline and corrective strategies for sustainable improvement", *Reproduction Supplements*, V. 64, (2007), 237-254.
414. Forshell, K.P., Andersson L. et Pherson, B., "The relationships between fertility of dairy cows and clinical and biochemical measurements with special reference to plasma glucose and milk acetone", *J. Vet. Med. A.*, V. 38, n° 08, (Oct. 1991), 608-16.
415. Vajdi, S., Zamiri, M.J., Nazifi, S., Rowghani, E., "The Relationship Between Physiological Blood Parameters and Fertility in Holstein Cows", *Iran Agricultural research*, V. 21, (2002), 173-186.
416. Miettinen, P.V.A., "Metabolic balance and reproductive performance in Finnish dairy cows", *Journal of Veterinary Medicine Series A*, V. 37, (1991), 417-424.
417. Kronfeld, D.S., Donoghue, S., Copp, R.I., Stearns, F.M., Engle, R.H., "Nutritional status of dairy cows indicated by analysis of blood", *J. Dairy Sci.*, V. 65, (1982), 1925-1933.
418. Reist, M., Koller, I.A., Busato, A., Ktipfer, U., Blum, J.W., "First ovulation and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows", *Theriogenology*, V. 64, (2000), 685-701.
419. Butler, S.T., Pelton, S.H., Butler, W.R., "Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol", *J. Dairy Sci.*, V. 89, (2006), 2938-2951.

420. Spicer, L.J., Chamberlain, C.S., Maciel, S.M., “Influence of gonadotropins on insulin- and insulin-like growth factor-I (IGF-I)induced steroid production by bovine granulosa cells”, *Domest. Anim. Endocrinol.*, V. 22, (2002), 237–254.
421. Zhao, H., Zhao, Y., Li, T., Li, M., Li, J., Li, R., Liu, P., Yu, Y., Qiao, J., “Metabolism alteration in follicular niche : The nexus among intermediary metabolism, mitochondrial function, and classic polycystic ovary syndrome”, *Free Radical Biology and Medicine*, V. 86, (2015), 295 – 307.
422. Miettinen, P.V., “Metabolic balance and reproductive performance in Finnish dairy cows”, *Zentralbl. Veterinarmed.*, V. 37, (1990), 417-424.
423. Paragon, B.M., “Qualité alimentaire et fécondité chez la génisse et la vache adulte : importance des nutriments non énergétiques”, *Bull. G.T.V.*, V. 91, (1991), 39-52.
424. Wolter, R., “Alimentation de la vache laitière”, Paris : France Agricole, (1992), 223.
425. Enjalbert, F., “Alimentation et reproduction chez les bovins”, Journées nationales des GTV : la reproduction, Tours, France. Paris : *SNGTV*, (1998), 49-55.
426. Kaur, H., Arora, S.P. “Dietary effects on ruminant livestock reproduction with particular reference to protein”, *Nutr. Res. Reviews*, V. 8, (1995), 121-136.
427. El-Bahr, S.M., Ghoneim, I.M., Waheed, M.M., “Biochemical and hormonal analysis of follicular fluid and serum of female dromedary camels (*Camelus dromedarius*) with different sized ovarian follicles”, *Animal Reproduction Science*, V. 159, (2015), 98–103.
428. Hudson, N.L., Berg, M.C., Green, M.P., Back, P.J., Thorstensen, E.B., Peterson, A.J., Pitman, J.L., McNatty, K.P., “The microenvironment of the ovarian follicle in the postpartum dairy cow : Effects on reagent transfer from cumulus cells to oocytes in vitro”, *Theriogenology*, V. 82, (2014), 563–573.
429. Amweg, A.N., Salvetti, N.R., Stangaferro, M.L., Paredes, A.H., Lara, H.H., Rodríguez, F.M., Ortega, H.H., “Ovarian localization of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase (11 β HSD): effects of ACTH stimulation and its relationship with bovine cystic ovarian disease”, *Domestic Animal Endocrinology*, V. 45, (2013), 126–140.

430. Spicer, L.J. and Zinn, S.A., "Relationship Between concentrations of cortisol in ovarian follicular fluid and various biochemical markers of follicular differentiation in cyclic and anovulatory cows", *J. Reprod. Fert.*, V. 81, (1987), 221-226.
431. Peter, A.T., Peter, I., Simon, J.E., Luker C.W. and Bosu, W.T.K., "Site of action for endotoxin-induced cortisol release in the suppression of preovulatory luteinizing hormone surges", *Theriogenology*, V. 33 n° 03, (mar. 1990).
432. Sunak, N., Green, D.F., Abeydeera, L.R., Thurston, L.M., Michael, A.E., "Implication of cortisol and 11b-hydroxysteroid dehydrogenase enzymes in the development of porcine (*Sus scrofa domestica*) ovarian follicles and cysts", *Reproduction*, V. 133, (2007), 1149–1158.
433. Guéchet J., "Cortisol. Biologie clinique", [90-10-0330]. Elsevier Masson SAS, (2003).
434. Drion, P.V., Beckers, J.-F., "Régulation De La Croissance Folliculaire Et Lutéale : 1. Folliculogénèse Et Atrésie", *Point Vét.*, V. 28 (n° Spécial), (1996), 881-891.
435. Casida, L.E., Chapman, A.B., "Factors affecting the incidence of cystic ovaries in a herd of Holstein cows", *J. Dairy Sci.*, V. 34, (1951), 1200-1205.
436. Bierschwal, C.J., "A clinical study of cystic conditions in the bovine ovary", *J. Am. Vet. Assoc.*, V. 149, (1966), 1591-1595.
437. AL-Dahash, S.Y., David, J.S.E., "Anatomical feature of cystic ovaries in cattle found during an abattoir survey", *Vet. Rec.*, V. 101, (1977), 320-324.
438. Erb, H.N., "High milk production as a cause of cystic ovaries in dairy cows: evidence to the contrary", *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, V. 6, (1984), 215-216.
439. Hooijer, G.A., Van Oijen, M.A.A.J., Frankena, K., Noordhuizen, J.P.T.M., "Milk production parameters in early lactation: potential risk factors of cystic ovarian disease in Dutch dairy cow", *Livest. Prod. Sci.*, V. 81, n° 01, (2003), 25-33.
440. Morrow, D.A., Roberts, S.J., Mcentee, K., "A review of ovarian activity and involution of the uterus and cervix in cattle", *Cornell Vet.*, V. 59, (1969), 134-154.
441. Shawky, A., Moustafa, Ahmed, A., Tantawy, Mona, F., Ibrahim, "An Abattoir Survey Of Female Genital Disorders Of Camels (*Camelus Dromedaries*) In Kalyoubia, Egypt", 1st Ann. Confr. , FVM., Moshtohor, Sept (2004).
442. Diskin, M.G., Morris, D.G., "Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants", *Reprod Domest Anim*, 43 (2), (2008), 260-267.

443. Nadeau J.D., "L'importance des facteurs nutritionnels en pathologie de la reproduction bovine", CAN. VET. JOUR., vol. 9, no. 4, (April, 1968).
444. Belkhiri, A., "Contribution à l'étude physiopathologique du post-partum chez la vache laitière", Mémoire de magistère en Sciences Agronomiques, Institut National Agronomique, El-Harrach, (2001), p99.
445. Ghozlane, F., Yakhlaf, H., Yaïci, S., "Performances de reproduction et de production laitière des bovins laitiers en Algérie", Annale de l'INA-El-Harrach-vol 24, N°1 et 2, (2003).
446. Belabdi I., "Etude de l'activité ovarienne post-partum, par dosage de la progestérone dans le lait dans une exploitation de vaches laitières (Wilaya de Blida) ". Mémoire de magistère en Sciences Vétérinaires, ENSV, El-Harrach, (2011).
447. Kalem, A., Kaidi, R., "Programme mensuel d'investigation des pathologies de la reproduction et diagnostic des déséquilibres alimentaires", Vèmes journées de médecine vétérinaire, Constantine, (15-16 Mai, 2012).
448. Miroud, K., Hadeif, A., Kaidi, R., "La détermination du profil métabolique: indicateur de suivi de la reprise de l'activité ovarienne post-partum de la vache laitière dans l'Est Algérien", Livestock Research for Rural Development, 21(6), (2009).
449. Zemmouri L., "Etude de la relation entre les indicateurs du statut nutritionnel et la reprise de l'activité ovarienne post-partum chez la vache laitière (cas de la région de la Mitidja) ", Mémoire de magistère, ENSV, El-Harrach, (2012).
450. Faverden, P., M'Hamed, D., Rico-Gómez, M., Vérité, R., " La nutrition azotée influence l'ingestion chez la vache laitière", INRA Prod.Anim., 16 (1), (2003), 27-37.
451. [http://alger-roi.fr/Alger/communes_villages_sahel/textes/26_trois_villages_sahel_douaouda_bouch et.htm](http://alger-roi.fr/Alger/communes_villages_sahel/textes/26_trois_villages_sahel_douaouda_bouch_et.htm).